Проф. В.С.Петросян

Спектроскопия ЯМР высокого разрешения в органической и металлорганической химии.

История

Первые наблюдения ЯМР опубликованы в 1946 году Ф.Блохом с сотр. и Ю.Перселлом с сотр., за что в 1952 году им была присуждена Нобелевская премия по физике.

Физические основы

Большинство ядер обладает угловым моментом количества движения P

$P = \sqrt{I(I+1)}\hbar$ (1)

где $\hbar$ – константа Планка, I – квантовое число углового момента (ядерный спин).

Магнитный момент: $\mu = \gamma P$ (2),

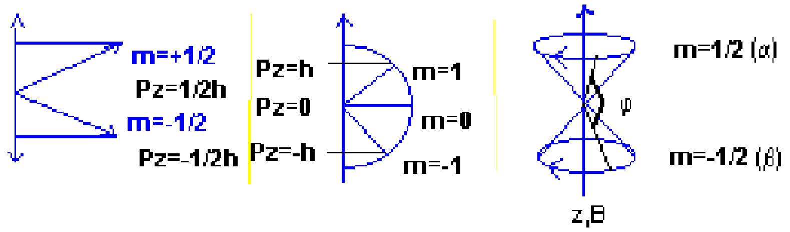
где γ – гиромагнитное отношение.

$\mu = \gamma\sqrt{I(I+1)}\,\hbar$ (3)

Ядро	Спин, I	Природное содержание, %	Частота ЯМР (МГц) при B_0=2.35 Т	Гиромагнитное отношение γ (10^{-7} $рад \cdot T^{-1} \cdot сек^{-1}$)
^{1}H	1/2	99.98	100.000	26.7519
^{2}H	1	0.016	15.351	4.1066
^{12}C	0	98.9	-	-
^{13}C	1/2	1.108	25.144	6.7283
^{14}N	1	99.63	7.224	1.9338
^{15}N	1/2	0.37	10.133	-2.712
^{16}O	0	99.96	-	-
^{17}O	5/2	0.037	13.557	-3.6279
^{19}F	1/2	100	94.077	25.181
^{31}P	1/2	100	40.481	10.841

Ядра в статическом магнитном поле

Ядро с угловым моментом P и магнитным моментом μ в статическом магнитном поле B_0 ведет себя так, что располагающийся вдоль магнитного поля компонент $P_Z = m\hbar$ (4), где m – магнитное квантовое число, которое принимает значения *I, I-1, ..., -I+1, -I*. Очевидно, что m может принимать $(2I+1)$ различных значений и, соответственно, для углового и магнитного моментов может наблюдаться аналогичное число возможных ориентаций (квантование по направлению).



Для ядер с $I = 1/2$ прецессия осуществляется при $\varphi = 54°44'$.

Из (2) и (4) мы получаем компоненты вдоль направления поля Z:

$$\mu_Z = m\gamma\hbar \quad (5)$$

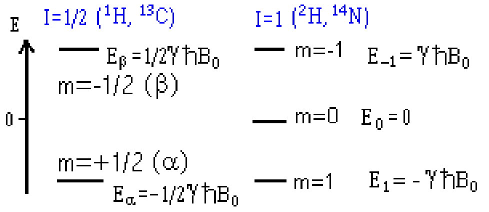
Частота вращения ядерного диполя (ларморова частота) пропорциональна плотности магнитного потока:

$$\nu_L = \left|\frac{\gamma}{2\pi}\right| B_0 \quad (6)$$

Энергия ядер в магнитном поле.

Магнитный диполь, попадая в магнитное поле с плотностью потока B_0, обладает энергией $E = -\mu_Z B_0$ (7). Для ядра с ($2I + 1$) возможных ориентаций имеется ($2I + 1$) энергетических состояний (ядерные зеемановские уровни).

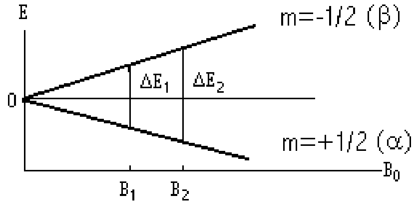
Из (5) и (7) получаем: $E = -m\gamma\hbar B_0$ (8)



Различие в энергиях между двумя соседними энергетическими уровнями:

$\Delta E = \gamma\hbar B_0$ (9)

Оно зависит от плотности магнитного потока B_0 (см. пример для $I = 1/2$).



Населенности энергетических уровней.

В макроскопическом образце при термическом равновесии ядра распределяются по различным энергетическим уровням в соответствии со статистикой Больцмана.
Если для I = 1/2 число ядер на верхнем энергетическом уровне обозначить N_β, а на нижнем уровне - N_α, то:

$$\frac{N_\beta}{N_\beta} = e^{-\Delta E / k_B T} \approx 1 - \frac{\Delta E}{k_B T} = 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{k_B T} \quad (10),$$

где k_B - константа Больцмана, а T - абсолютная температура (в K). Значение ΔE по сравнению со средней энергией k_BT термических движений крайне мало, поэтому населенности энергетических уровней примерно одинаковы. Избыток на нижнем энергетическом уровне составляет только м.д. (ppm).

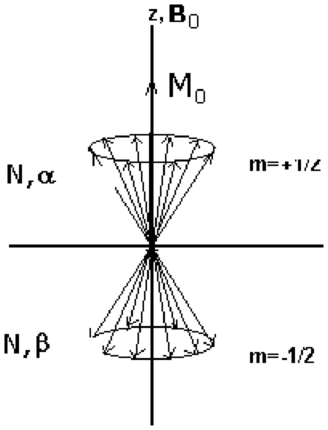
Для ^1H при B_0 = 1.41 T ($\nu_{рез} = 60$ МГц) $\Delta E = 2.4 \cdot 10^{-2}\ J \cdot mol^{-1}$

При T = 300 K $N_\beta = 0.9999904\, N_\alpha$

Для B_0 = 7.05 T ($\nu_{рез} = 300$ МГц) $N_\beta = 0.99995\, N_\alpha$ (различие растет!)

Макроскопическое намагничивание

Т.к. $N_\alpha > N_\beta$, то в результате прецессии ядерных диполей на поверхности двойного конуса вокруг оси Z возникает макроскопическое намагничивание, играющее важную роль в описании импульсных экспериментов.



Основные принципы эксперимента ЯМР

Условие резонанса реализуется в том случае, когда для стимулирования переходов с разных энергетических уровней ядра облучают радиочастотным полем B_1 с соответствующей частотой ν_1. Переходы становятся возможны при выполнении следующего условия:

$$h\nu_1 = \Delta E \quad (11)$$

Переходы с нижнего уровня на верхний соответствуют поглощению энергии, а с верхнего уровня на нижний – испусканию энергии. Т.к. $N_\alpha > N_\beta$, то преобладает процесс поглощения энергии облучающего поля. Интенсивность наблюдаемого сигнала поглощения пропорциональна $N_\alpha - N_\beta$, а следовательно, и полному числу спинов N, т.е. концентрации ядер Если же населенности равны, то сигнал не наблюдается, т.е. имеет место насыщение.

Из (9) и (11) получаем условие резонанса:

$$\nu_L = \nu_1 = \left|\frac{\gamma}{2\pi}\right| B_0 \quad (12)$$

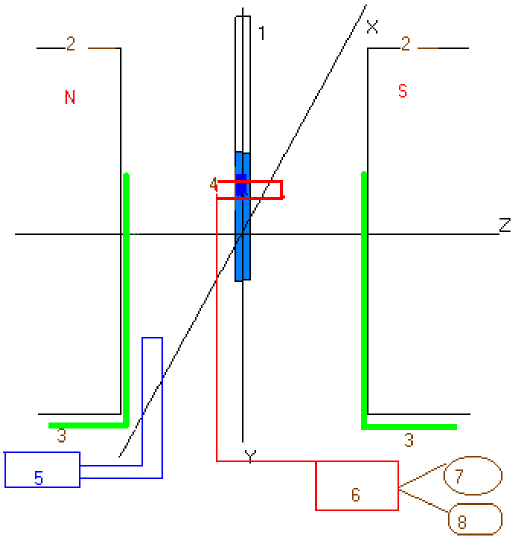
В тех случаях, когда $I \geq 1$, квантовая механика разрешает только те переходы, в которых m меняется на единицу: $\Delta m = \pm 1$ (13).

Таким образом, переходы могут иметь место только между соседними энергетическими уровнями (т.е., например, для ^{14}N переход с $m = +1$ на $m = -1$ запрещен).

CW-спектрометр.

Приборы этого типа использовались с момента открытия ЯМР и во многих лабораториях используются и сейчас.

1 - ампула с образцом;
2- магнит;
3 - "свипирующие" катушки;
4 - приемная катушка;
5 - радиопередатчик;
6 - усилитель;
7 - осциллограф;
8 - самописец

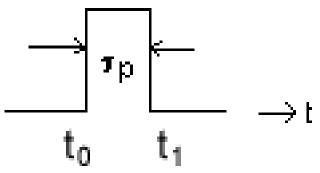


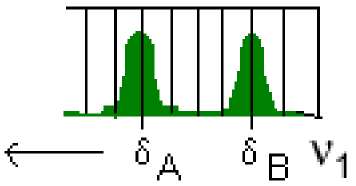
Реализуются как полевой, так и частотный "свип" при непрерывном изменении B_0 или ν_1.

В наиболее широко используемых спектрометрах:

B_0, Т	Резонансные частоты, МГц	
	^1H	^{13}C
1.41	60	15.1
1.88	80	20.1
2.11	90	22.63
2.35	100	25.15
4.70	200	50.3
7.05	300	75.4
9.40	400	100.6
11.74	500	125.7
14.09	600	150.9

Импульсный метод ЯМР





В отличие от CW-метода в импульсном варианте возбуждение ядер осуществляют не “постоянной волной”, а с помощью короткого импульса продолжительностью τ_p (обычно несколько микросекунд):
Радиочастотный генератор включают в момент t_0 и выключают в момент t_1. Продолжительность импульса зависит от ширины спектра. Например, если используется $\tau_p = 10^{-5}$ с, то частотная полоса будет шириной $\approx 10^{-5}$ Гц. Если среднее значение ν_1 выбрано правильно, то все частоты в регистрируемом спектре будут находиться в этой полосе:

Полоса находится в пределах от $\nu_1 - \tau_p^{-1}$ до $\nu_1 + \tau_p^{-1}$.

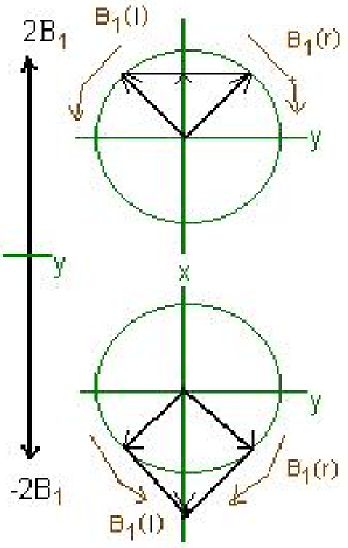
Амплитуды частотных компонент импульса уменьшаются с увеличением расстояния от ν_1. Т.к., однако, желательно, чтобы все ядра облучались одинаково, необходимо использовать “жесткие импульсы”, т.е. короткие импульсы большой мощности. Продолжительность импульса выбирают так, чтобы ширина частотной полосы была больше ширины спектра на один-два порядка. Мощность – несколько Ватт.

Классическое описание импульсного эксперимента

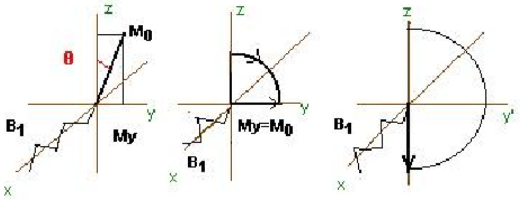
Взаимодействующее с ядерными диполями радиочастотное поле B_1 можно представить двумя векторами одинаковой величины, вращающимися с частотой ν_L (сумма этих векторов = $2B_1$).

С ядерными диполями взаимодействует только та компонента, которая имеет одинаковое с ними направление вращения. Под влиянием этой компоненты отклоняется от оси z намагниченность M_0, причем отклонение происходит в плоскости, перпендикулярной B_1. Во вращающейся системе координат x', y', z' ориентация и величина B_1 будут фиксированы. Угол поворота вектора намагниченности

$\theta = \gamma B_i \tau_p$ (14).



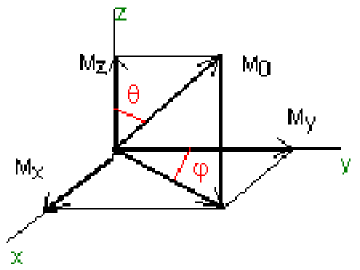
В большинстве импульсных методик используются $\theta = 90°$ и $180°$, но можно использовать и переменную величину θ:



Максимальные сигналы наблюдаются при $\theta = 90°$, т.к. важнейшей является поперечная намагниченность $M_{y'}$, ибо катушка приемника ориентирована вдоль оси y. Для $180°_{x'}$-импульса сигналы не наблюдаются.

Релаксация.

При включении радиочастотного поля вектор M_0 отклоняется от равновесного положения через угол θ. Спиновая система возвращается к равновесному состоянию через релаксацию, когда $M_z \rightarrow M_0$, а M_x и $M_y \rightarrow 0$. Блох предположил, что релаксационные процессы имеют первый порядок и могут быть описаны двумя различными временами релаксации, определяемыми уравнениями Блоха для вращающейся системы координат (x', y', z'):

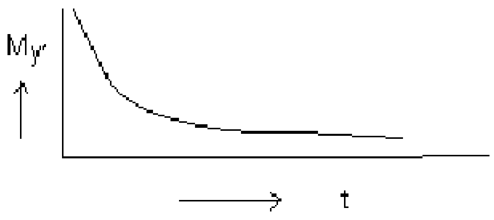


$$\frac{dM_Z}{dt} = \frac{M_Z - M_0}{T_1} \quad (15); \qquad \frac{dM_{X'}}{dt} = -\frac{M_{X'}}{T_2} \quad \text{и} \quad \frac{dM_{Y'}}{dt} = -\frac{M_{Y'}}{T_2} \qquad (16),$$

где T_1 - время спин-решеточной или продольной релаксации, а T_2 - время спин-спиновой или поперечной релаксации. Обратные величины, T_1^{-1} и T_2^{-1} , соответствуют константам скоростей релаксации.

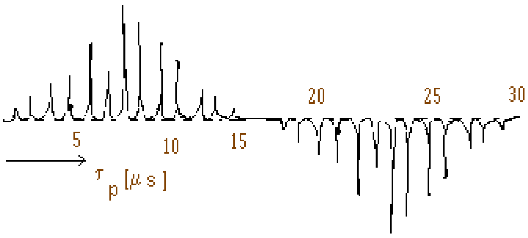
Рассмотрим для примера, что происходит с поперечным намагничиванием после импульса в $90°_{X'}$. При этом M_0 в момент $t = 0$ лежит вдоль оси y'. Т.к. эта ось вращается с ν_L ядер, $M_{y'}$ остается постоянной или, более точно, ее величина уменьшается во времени со скоростью, определяемой потерями через релаксацию. В соответствии с (16), это уменьшение экспоненциально и его скорость обусловлена временем поперечной релаксации T_2.

Такие "спадающие" кривые в реальных экспериментах не наблюдаются, т.к. используемые методы детектирования предполагают получение таких кривых только в тех случаях, когда частота генератора ν_1 и резонансная частота наблюдаемых ядер случайно совпадают.



Фазовая когерентность

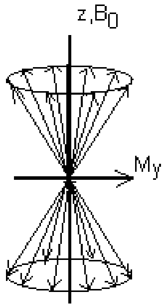
Экспериментальное подтверждение (14). Из этого уравнения следует, что θ можно увеличить, либо увеличив амплитуду компонента B_i, либо увеличив продолжительность импульса τ_p. В экспериментах Фриболина с образцом H_2O увеличивали τ_p с интервалом 1 мкс, а B_i выдерживали постоянной. Из полученных результатов следует, что максимум амплитуды соответствует



$\theta = 90°$, а там, где сигнал проходит через нуль, $\theta = 180°$. Очевидно также, что большие значения τ_p дают отрицательную амплитуду сигнала, что объясняется появлением поперечной намагниченности - $M_{y'}$ при $\theta > 180°$.

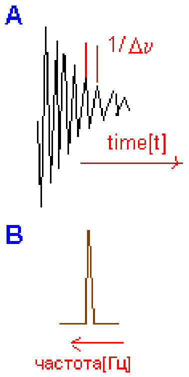
Что касается заселенностей энергетических уровней, то при $\theta > 180°$ ситуация обращается и на верхнем энергетическом уровне ядер будет больше, чем на нижнем.

При $\theta = 90°$ имеем более сложную ситуацию, т.к. $M_2 = 0$ и оба зеемановских уровня заселены равным образом. Этот случай отличается от насыщения, т.к. в данной ситуации у нас $M_{y'}$ имеется, а при насыщении - нет. Появление поперечной намагниченности в данном случае объясняется тем, что под влиянием B_1 ядерные диполи прецессируют вокруг двойного конуса не равномерно, а образуя “редкие” и “плотные” фракции, прецессирующие “по фазе”. Это явление называется “фазовой когерентностью".



Фурье-преобразование.

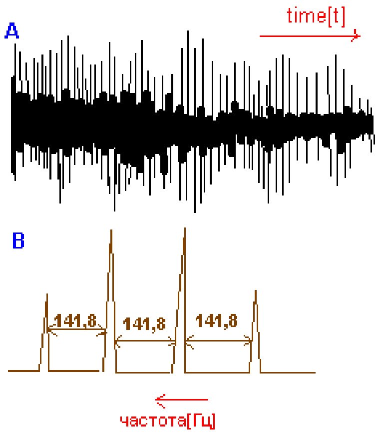
Рассмотрим спектр ПМР CH_3I, представляющий собой типичный пример ССИ, т.е. спада поперечного намагничивания. В спектре “временного представления” (А) частота генератора почти точно равна резонансной частоте протонов



CH_3–группы. В спектре “частотного представления” (В) имеем результат преобразования Фурье для ССИ.

Если в образце содержатся ядра с различными резонансными частотами или спектр представляет собой мультиплет вследствие спин-спинового взаимодействия, то кривые спада различных компонент поперечного намагничивания накладываются друг на друга и имеет место интерференция между несколькими ССИ. Спектр ЯМР ^{13}C для $^{13}CH_3OH$ представляет собой типичную интерферограмму, содержащую интересующие нас резонансные частоты и интенсивности. И в этом случае преобразование Фурье помогает нам превратить (А) в (В).

$$f(\omega) = f(t)\, e^{i\omega t} dt \qquad (17).$$



$f(t)$ соответствует спектру “временного представления”, а $f(\omega)$ - спектру “частотного представления”. $f(\omega)$ - сложная функция, состоящая из реальной (Re) и воображаемой (Im) частей. В 1D- спектроскопии ЯМР Re имеет наибольшее значение, тогда как в 2D-спектроскопии ЯМР обычно получают спектр с использованием выражения $M = \sqrt{\mathrm{Re}^2 + \mathrm{Im}^2}$

Накопление спектра. Осуществляют для ядер с низкой чувствительностью и очень разбавленных растворов – ССИ многих импульсов суммируются в компьютере, а потом подвергаются преобразованию Фурье. При этом “шум” усредняется, а “сигнал” растет. Их отношение пропорционально квадратному корню от “числа сканирований”: $S:N \sim \sqrt{NS}$ (18). Запись ССИ и хранение ее в цифровой форме требует некоторого периода, называемого “временем восприятия”, зависящего от числа используемых ячеек памяти. Выбор этого числа обусловлен шириной спектра и поэтому невозможно устанавливать универсальные значения. Для спектра шириной 5000 Гц и с 8K ячеек памяти для сбора данных нужна ~1 сек (1K=1024 Байт).

Импульсный спектрометр ЯМР

Основные блоки: магнит, передатчик, приемник и компьютер.
Магнит: все импульсные спектрометры с $B_0 > 2.35\,T$ имеют криомагниты.

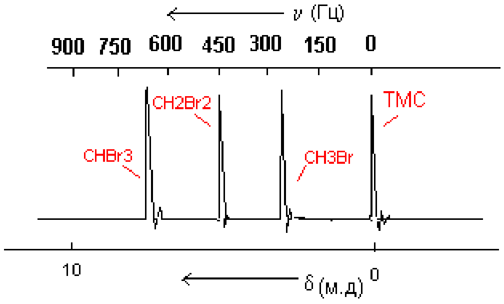
Передатчик: осциллятор, генерирующий импульсы с частотой ν_1 и продолжительностью τ_p.

Приемник: используемый метод детектирования сигналов позволяет использовать ν_1 в качестве эталонной частоты и смешивать ее с сигналом ЯМР, в результате чего в реальных экспериментах измеряется абсолютное значение различия между частотами сигнала и эталона.
Компьютер: используется для хранения цифровых данных, для преобразований Фурье, для коррекции фазы, для превращения спектра в желаемую форму, для развертки нужных частей спектра, для интегрирования сигналов и других целей.

Параметры спектров ЯМР.

Химический сдвиг. В диамагнитных молекулах эффективное магнитное поле $B_{эф.}$ на различных ядрах всегда меньше поля B_0, т.е. ядра экранированы: $B_{эф.} = B_0 - \sigma B_0 = (1-\sigma) B_0$ (19).

Константа экранирования σ - величина безразмерная, порядка 10^{-5} для ^1H, а для более тяжелых ядер имеющая большие значения, т.к. экранирование растет с ростом числа электронов. От магнитного поля σ не зависит, т.к. является молекулярной константой. С учетом (19) уравнение (12) превращается в: $\nu_1 = \frac{\gamma}{2\pi}(1-\sigma)B_0$ (20). Следовательно, химически неэквивалентные ядра экранированы в разной степени и дают в спектре отдельные резонансные сигналы.



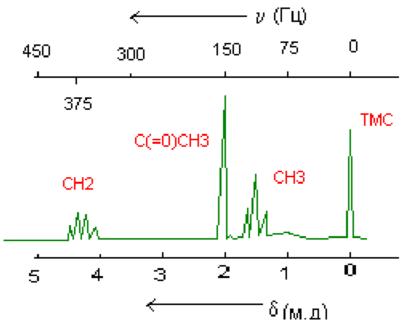
Из (20) следует, что чем больше резонансная частота, тем меньше константа экранирования. При этом измеряются не абсолютные частоты, а $\Delta\nu$ между резонансными сигналами интересующих нас ядер и эталона (внутреннего стандарта), в качестве которого для ^1H и ^{13}C используется Me_4Si. Т.к. $\Delta\nu$ зависит от B_0, ввели понятие химического сдвига (безразмерная величина!):

$\delta = \frac{\nu_{об} - \nu_{ст}}{\nu_{ст}} \times 10^6$ (21). Если в (21) заменить $\nu_{ст}$ на $\nu_{набл}$, то после такого упрощения получим новое уравнение: $\delta = \frac{\Delta\nu}{\nu_{набл}} \times 10^6$ (22). Для ТМС $\Delta\nu = 0$, поэтому $\delta(TMC) = 0$ (23).

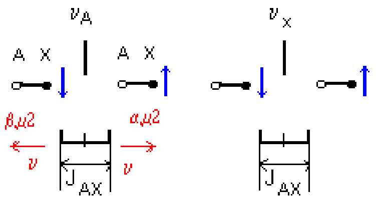
Для растворов в сильно полярных растворителях (H_2O, ДМСО и др.) вместо ТМС используют в качестве внутреннего стандарта $Me_2SiCH_2CH_2SO_3Na$ или внешний стандарт (с поправками!)

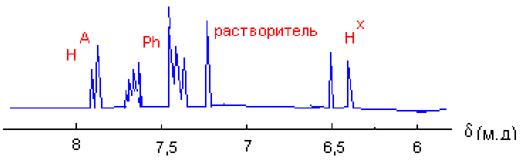
Спин-спиновое взаимодействие.

В спектре ЯМР этилацетата наряду с синглетом ацетильных протонов ($\delta \sim 1.4$ м.д.) и CH_2-группы ($\delta \sim 4.1$ м.д.) обусловлено "спариванием" спинов, влияющим на магнитное поле, в котором наблюдается резонанс конкретных ядер, что, в конце концов, определяет и конкретные резонансные частоты (в соответствии с (20)).



Спиновая система AX. Примерами двухспиновых систем являются $^1H^{19}F$, $^1H^{13}CCl_3$, Ph-CH^A-CH^X-COOH.



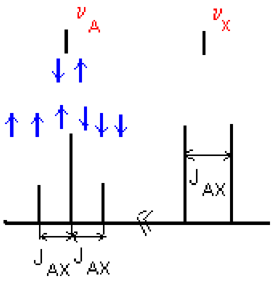


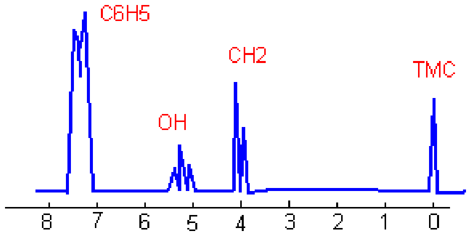
Т.к. расщепление полностью обусловлено магнитными моментами, то оно не зависит от B_0 и выражается в Гц.

Спиновая система AX_2.

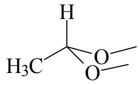
Для ядер X возможны 3 ориентации: (↑↑: $\alpha\alpha$), (↓↓: $\beta\beta$) или (↑↓: $\alpha\beta$ или ↓↑: $\beta\alpha$).

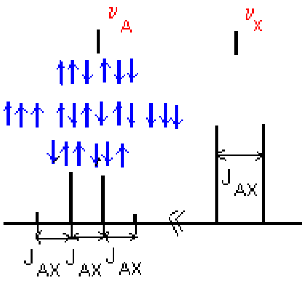
Отношение интенсивностей в триплете – 1:2:1, а для триплета и дублета - 1:2.

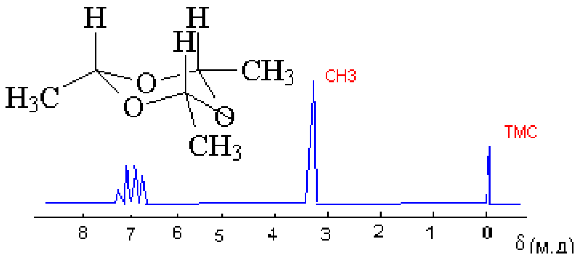




Спиновые системы AX_n

Рассмотрим для примера систему AX_3: 

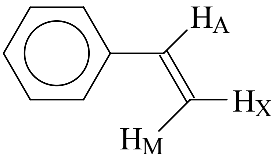


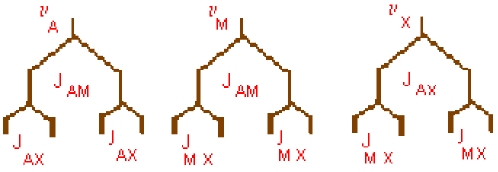


Правила мультиплетности.
Число компонент в мультиплете определяется уравнением: $M = 2nI + 1$ (24), где n - число соседних эквивалентных ядер. Для $I = 1/2$ $M = n + 1$ (25), а интенсивности компонент в мультиплете соответствуют биномиальным коэффициентам, которые могут быть получены из треугольника Паскаля.

n=0 1
n=1 1 1
n=2 1 2 1
n=3 1 3 3 1
n=4 1 4 6 4 1

Спиновая система AMX.





Спектр ПМР (250 МГц) в $CDCl_3$; $J_{AM} = 17.6$ Гц ($\delta_A \sim 6.7$ м.д.); $J_{MX} = 10.9$ Гц ($\delta_X \sim 5.2$ м.д.)

Спиновые системы A_n. В таких молекулах (H_2, CH_4, бензол и др.) спин-спиновые взаимодействия наблюдать невозможно. Для таких молекул наблюдаются спектры нулевого порядка.

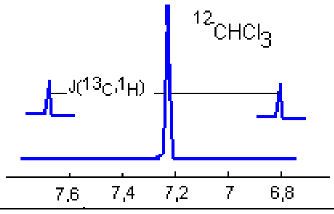
Порядок спектра. Мы ищем спектр первого порядка, если для анализа мультиплетов в нем можно использовать вышеприведенные правила. Для таких спектров $\Delta\nu >> J$.

Спектры более высокого порядка получаются тогда, когда нарушается это условие и могут появляться дополнительные линии (при этом отношения интенсивностей изменяются). В таких спектрах проявляется "спаривание" эквивалентных ядер. Анализ таких спектров возможен только с помощью компьютеров и часто указывает на различные знаки констант ССВ.

ССВ ^{1}H с другими ядрами.

Тк при этом практически всегда $\Delta\nu >> J$, мы имеем дело со спектрами первого порядка.

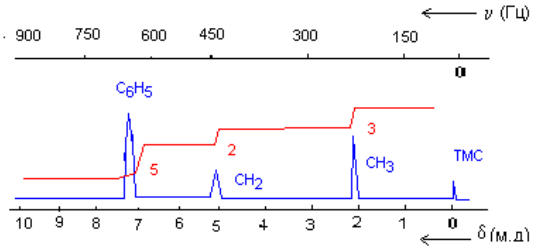
Интенсивности спектров ^{1}H.



В спектрах ЯМР интенсивность – площадь под сигналом. В мультиплетных спектрах измеряются относительные интенсивности мультиплетов.

Интенсивности сигналов ^{13}C.

Для аккуратного измерения интенсивностей сигналов ^{13}C необходимо использовать достаточно мощные импульсы. При большой ширине спектра и узких сигналах нужен мощный компьютер, либо лучше записывать отдельные участки спектра.



Влияние физических факторов на экранирование ядер

Для ядер со сферическим симметричным распределением заряда вклад диамагнитного экранирования рассчитывается по формуле Лэмба: $\sigma_{dia}(^1H) = 17.8*10^{-6}$; $\sigma_{dia}(^{13}C) = 260.7*10^{-6}$; $\sigma_{dia}(^{31}P) = 961.1*10^{-6}$. Для молекул расчеты дают неудовлетворительные результаты ($\sigma_{dia}(H_2) = 32.1*10^{-6}$, тогда как экспериментальное значение $\sigma_{dia}(H_2) = 26.6*10^{-6}$). Для корректировки этих расхождений с учетом несферического распределения заряда в молекулах вводится вклад парамагнитного экранирования (σ_{dia} и σ_{para} .имеют противоположные знаки). Т.к. $\sigma_{para} \propto 1/\Delta E$, то ясно, что для ^{1}H, у которого энергия электронного возбуждения велика, σ_{para} - очень незначительна, а у более тяжелых ядер с низколежащими возбужденными состояниями σ_{para} становятся весомыми. Но всегда $\sigma_{dia} > \sigma_{para}$.

Электроотрицательные заместители уменьшают, а электроположительные – увеличивают экранирование ядер.

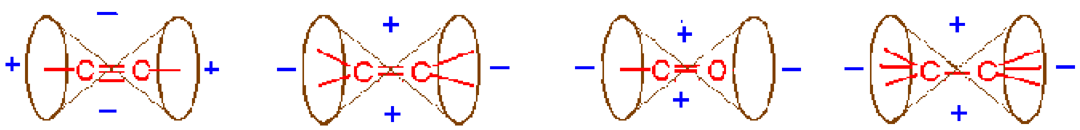
Т.к. химические свойства обычно магнитно анизотропны, они имеют различные восприимчивости вдоль трех координат, т.е. экранирование ядер зависит от их положений относительно других частей молекул. Для аксиально симметричного распределения заряда имеем две восприимчивости ($\chi_\perp$ и χ_{II}) – по отношению к оси связи. Вклад магнитной анизотропии соседних групп рассчитывается методом МакКоннелла:

$$\overline{\sigma_N} = \frac{1}{3r^3 4\pi}(\chi_\perp - \chi_{II})(1 - 3\cos^2\theta) \qquad (26);$$

r - расстояния до центра диполя Z ; θ - углы между *r* и направлением *A*.

Расчет показывает, что для H^A магнитное поле увеличивается, а для H^B - уменьшается.

Примеры магнитно-анизотропных эффектов.

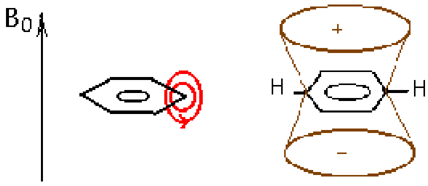


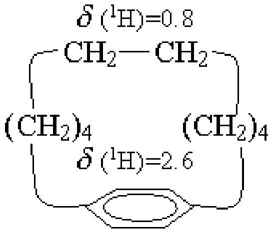
δ (^{1}H)=2.88 | δ (^{1}H)=5.28 | δ (^{1}H)=9-10 | δ (^{1}H)=0.1-0.7 (Для кресла-циклогексана)

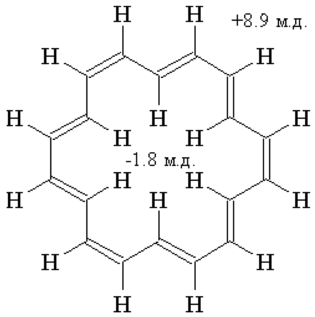
Вклад магнитной анизотропии соседних групп одинаков для разных ядер, но его относительная важность для тяжелых ядер, очевидно, меньше, чем для ^{1}H.

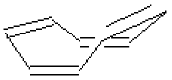
Эффект кольцевого тока.

Объясняет меньшее экранирование протонов бензола по сравнению с этиленом и другие факты.
δ (^{1}H)=7.27

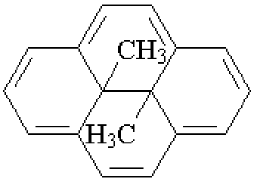








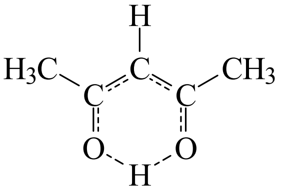
δ (^{1}H) = 5.7 м.д.



δ (CH_3) = 5.7 м.д.

Эффекты электрического поля. Возникают в молекулах, содержащих полярные группы. Например, протонирование анионов: $-NH_2 + H^+ \rightarrow -NH_3^+$.

Межмолекулярные взаимодействия: водородная связь



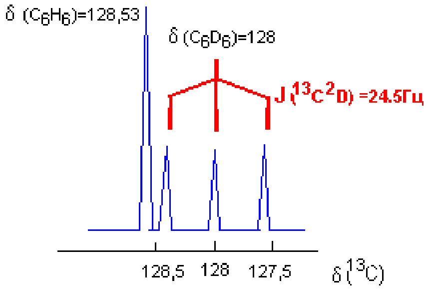
δ (^{1}H) = 15.5 м.д.

Эффекты растворителей (уменьшение экранирования при взаимодействии с растворителем).

Изотопные эффекты.

В спектре ПМР $CHCl_3$ дублет для $^{13}CHCl_3$ смещен в сильное поле на 0.7 Гц относительно синглета для $^{12}CHCl_3$.

Замена ^1H на ^2H в бензоле приводит к существенным изотопным эффектам в спектрах ЯМР ^{13}C.



10% C_6H_6 + 90% C_6D_6

Суммарное уравнение.

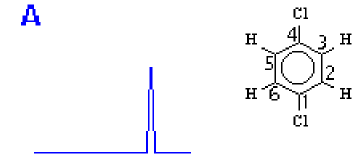
$$\sigma = \sigma_{dia}^{loc} + \sigma_{para}^{loc} + \sigma_N + \sigma_R + \sigma_e + \sigma_i \qquad (27)$$

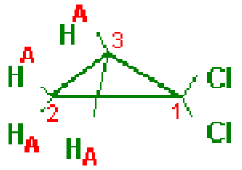
σ_{dia}^{loc} и σ_{para}^{loc} отличаются от σ_{dia} и σ_{para}, т.к. они учитывают только электронные вклады в непосредственной близости от исследуемых ядер;

δ(^{1}H) обусловлены, в основном, σ_{dia}. Остальные вклады играют второстепенную роль (как правило). δ(^{13}C) и более тяжелых ядер, главным образом, определяются σ_{para}. Другие вклады не важны.

Химсдвиги и структура молекул. Т.к. точные теоретические предсказания δ(^{1}H), δ(^{13}C) и др. невозможны, интерпретацию спектров проводят эмпирическим путем, используя различные закономерности. Например, для предсказания δ(CH_2) в Ph-CH_2-NH-CH_3 можно использовать правило Шулери: δ = 0.23 + S_x + S_y (где S_x и S_y - эффективные константы экранирования – табличные значения). В данном случае: S_{Ph} = 1.83; S_{CH_3NH} = 1.57. Следовательно, имеем: δ (CH_2) = 0.23 + 1.83 + 1.57 = 3.63, что практически точно совпадает с экспериментальными значениями.

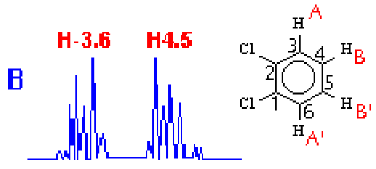
Эквивалентность, симметрия и хиральность.

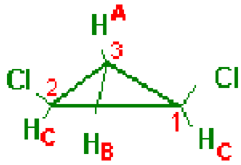




(A)

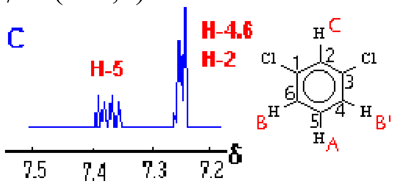
δ(C-1,4) ≠ δ (C-2,3,5,6) δ (C-1) ≠ δ (C-2,3)

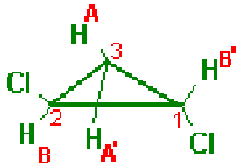




(B)

δ (C-1,2) ≠ δ (C-3,6) ≠ δ (C-4,5) δ (C-1,2) ≠ δ (C-3)





(C)

δ (C-1,3) ≠ δ (C-2) ≠ δ (C-5) ≠ δ (C-4,6) δ (C-1,2) ≠ δ (C-3)

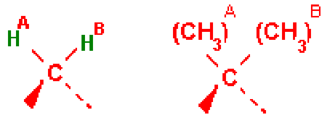
В ЯМР ^{1}H:

(A) δ (H-2) = δ (H-3)

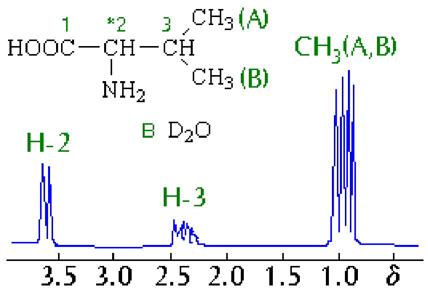
(B) δ (H^{A}) ≠ δ (H^{B}) ≠ δ (^{C}H)

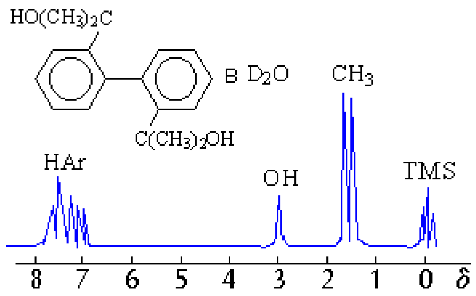
(C) δ ($H^{AA'}$) ≠ δ ($H^{BB'}$)

В вышеприведенных примерах основные отнесения сделаны, базируясь на представлениях об эквивалентности и симметрии. Для хиральных молекул спектры ЯМР обеих энантиомерных форм абсолютно одинаковы. Для того, чтобы эти формы различить, необходимо получить соответствующие диастереомеры, имеющие различные химические и физические свойства, в том числе спектры ЯМР. Получить свидетельство в пользу хиральности молекулы можно и без синтеза диастереомеров, но только если молекула содержит диастереотопную группу. Обычно эти эффекты наблюдаются в спектрах ПМР, а наиболее часто встречающимися диастереотопными группами являются CH_2 и $C(CH_3)_2$.



Некоторые примеры диастереотопии.



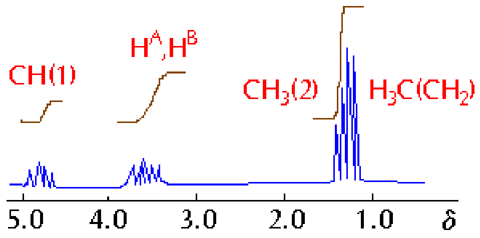


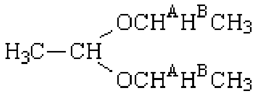
CH_3-группы диастереотопны из-за наличия асимметрического атома углерода C2 (мультиплетность – дубль дублетов).

CH_3-группы диастереотопны из-за хиральности бифенила вследствие заторможенного вращения вокруг связи С-С (атропоизомеризм и конформационные энантиомеры).

Для валина сигналы OH и NH_2 не наблюдаются из-за обмена с D_2O. В случае бифенила сигнал OH исчезает при добавлении следов CF_3COOH.

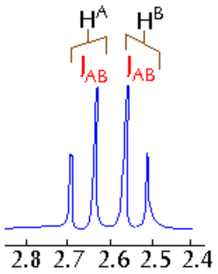
Иногда диастереотопия наблюдается и для ахиральных молекул.



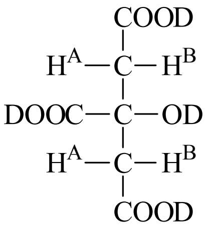


C_2H_5-группы - типа ABX_3

C(1) - прохиральный центр



В лимонной кислоте ситуация – аналогичная с диэтилацеталем ацетальдегида.



Итак, если CH_2-протоны или CH_3-группы неэквивалентны, то молекула – хиральна. Но если спектр указывает на их эквивалентность, то хиральность не исключена.

Спин-спиновое взаимодействие и строение молекул.

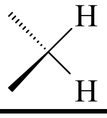
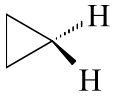
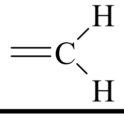
Для органической химии большой интерес представляют порядки величин и знаки констант спин-спинового взаимодействия H-H, C-H, C-C. Факторы, влияющие на КССВ:

1. Гибридизация атомов, участвующих в ССВ;
2. Углы между связями и торсионные углы;
3. Длины связей;
4. Наличие соседних π-связей;
5. Эффекты соседних неподеленных электронных пар;
6. Эффекты заместителей;

	J(H,H), Гц	Знак	*J(C,H)*, Гц	Знак	*J(C,C)*, Гц	Знак
^{1}J	276	+	125-250	+	30-80	+
^{2}J	0-30	-	-10: +20	+/-	< 20	+/-
^{3}J	0-18	+	1-10	+	0-5	+
^{3+n}J	0-7	+/-	< 1	+/-	< 1	+/-

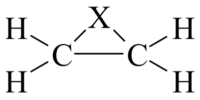
Геминальные КССВ $^{2}J(H,H)$ зависят от

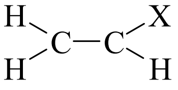
1. Угла $\angle(H,H)$;
2. Гибридизации C;
3. Заместителей;

			
^{2}J, Гц	-11; -14	-2; -5	+3; -3
$\phi = \angle(H,H)$	109°	120°	120°
Примеры:	Метан (-12.4 Гц)	Циклопропан (-4.5 Гц)	Этилен (2.5 Гц)

Очевидно, что чем больше ϕ, тем более положительна константа $^{2}J(H,H)$.

Соединение	CH_4	CH_3OH	CH_3Cl	CH_3F	CH_2Cl_2	CH_2O
^{2}J, Гц	-12.4	-10.8	-10.8	-9.6	-7.5	+41.0

X в 	*CH₂*	*S*	*NR*	*O*
^{2}J, Гц	-4.5	(±0.4)	+2.0	+5.5

X в 	*Li*	*H*	*Cl*	OCH_3	*F*
$^{2}J(H,H)$, Гц	+7.1	+2.5	-1.4	-2.0	-3.2

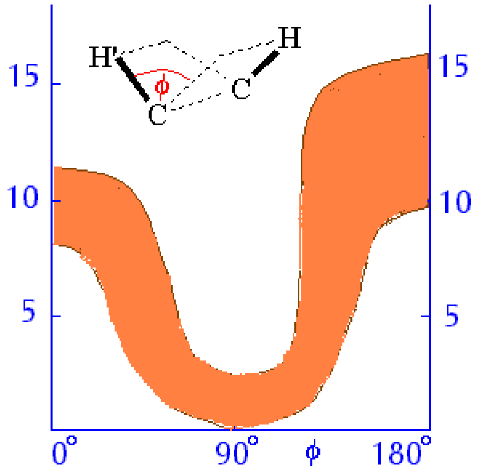
Вицинальные константы $^3J(H,H)$ зависят от:

1. Торсионных и двугранных углов;
2. Заместителей;
3. Расстояния между атомами С-С;
4. Угла ∠(Н-С-С).

Соединение	**Геометрия**	**$^3J(H,H)$, интервал в Гц**	**Типичное значение [b)]**
Циклопропан	Цис	6-10	8
	Транс	3-6	5
Циклобутан	Цис	6-10	-
	Транс	5-9	-
Циклогексан	а,а	6-14	9
	а,е	3-5	3
	е,е	0-5	3
Бензол	Орто	6-10	9
Пиридин	2,3	5-6	5
	3,4	7-9	8
Н-С-С-Н		0-12	7
=СН-СН=		9-13	10
$-CH=CH_2$	Цис	5-14	10
	Транс	11-19	16
$\rangle CH-CHO$		1-3	3
$=CH-CHO$		5-8	6
$CH-NH^{a)}$		4-8	5
$CH-OH^{b)}$		4-10	5
$CH-SH^{a)}$		6-8	7

$^{a)}$ Без обмена; $^{b)}$ все значения со знаком ⊕

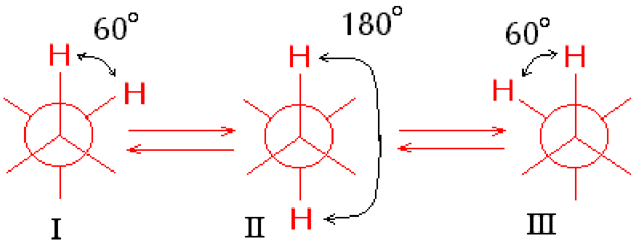
Карплус: показал расчетным путем зависимость вицинальных КССВ от двугранного угла. Теоретическая кривая Карплуса – нижняя, а заштрихованная – область типичных значений $^3J(H,H)$.



Замещенные этаны:

В I и III $^3J_{гош} \approx$ 3-5 Гц ($\phi = 60°$)

В II $^3J_{транс} \approx$ 10-16 Гц ($\phi = 180°$)



I II III

При [I] = [II] = [III] $^3J = \frac{1}{3}(2\,^3J_{гош} + {}^3J_{транс}) \approx 7$ Гц.

Если [I] $\neq$ [II] $\neq$ [III], то $^3J = x_I J_{гош} + x_{II} J_{транс} + x_{III} J_{гош}$.

^{3}J зависит от температуры, как и равновесие I, II, III.

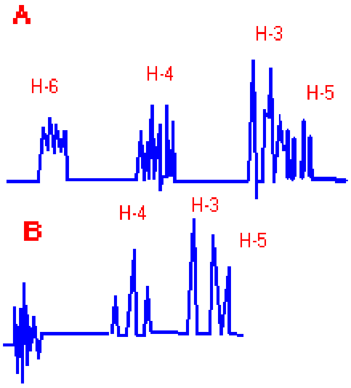
Эксперименты двойного резонанса

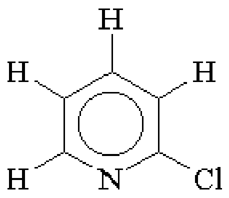
Применения:

1) Гомоядерное "распаривание", в основном применяемое в ПМР.
2) Гетероядерное "распаривание", используемое, главным образом, в спектроскопии ЯМР ^{13}C.
3) для определения схем энергетических уровней и относительных знаков КССВ.
4) в методе «переноса селективной поляризации», используемом в одноразмерной спектроскопии ЯМР (1D-NMR) с применением последовательностей сложных импульсов.
5) для увеличения интенсивности сигналов вследствие ядерного эффекта Оверхаузера.
6) в «динамическом ЯМР» с использованием «переноса насыщения» удается измерить константы скоростей обменных процессов.

"Развязывание спина" в спектроскопии ЯМР ^{1}H.

Т.к. ССВ приводит к расщеплению сигнала только, если ядра сохраняют ориентацию спинов в поле B_0 на период времени, более длинный, чем $\tau_1 = 1/J$, то в экспериментах двойного резонанса τ_1 уменьшают одновременным облучением ν_2, точно равной резонансной частоте ядер, с которыми нужно "развязать" интересующие нас ядра.





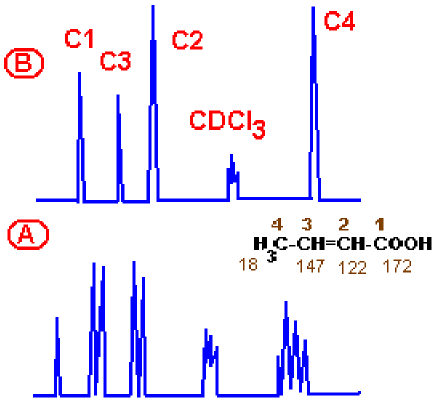
CW-спектр

Двойной резонанс дал возможность превратить ABCX → ABC. Если облучить H-4 ν_3, то ABC → AB, т.е. будет реализован тройной резонанс. Для определения схем энергетических уровней и относительных знаков КССВ используется т.н. метод "щекотания спинов" (spin tickling).

Подавление сигнала растворителя.

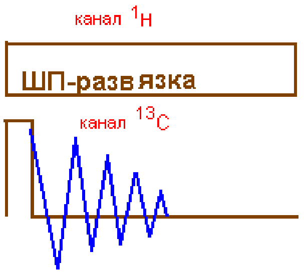
При использовании органических растворителей такие проблемы возникают редко, т.к. обычно применяют дейтерированные аналоги с высокой степенью изотопного замещения. Применение воды (даже D_2O) приводит к существенному перекрыванию сигнала H_2O или HDO ($\delta = 4 – 5$ м.д.) с интересующими сигналами растворенного вещества. Важно знать, что при 24^0C этот сигнал появляется при 4.8м.д., а при 80^0C – при 4.4м.д. Т.к. T_1 (H_20) = 3сек, а для протонов в органических молекулах – 1сек, то для подавления сигналов H_2O и HDO необходимо использовать ту же последовательность импульсов, что и для измерений T_1, а именно: $(180^0{}_{x'} – \tau – 90^0{}_{x'}$ – ССИ$)_n$, варьируя τ. За этот временной интервал протоны органических молекул притерпевают полную релаксацию и удается наблюдать необходимый спектр.

«Распаривание спинов» в спектроскопии ЯМР ^{13}C.



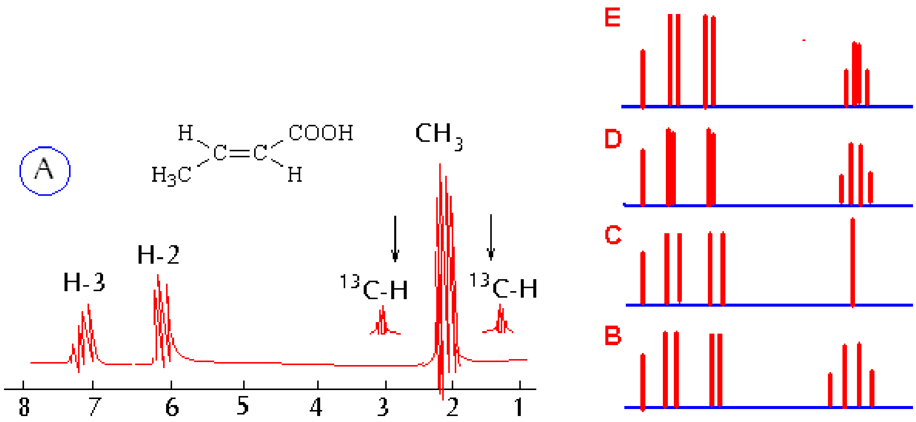
«Развязка» от протонов реализуется использованием генератора, обеспечивающего широкую полосу частот во всем диапазоне спектра ^{1}H.

Для подавления ССВ ^{13}C со всеми протонами необходима высокая мощность передатчика, что может приводить к перегреванию образца. Для предотвращения этого предложена новая методика широкополосной развязки с использованием «составных импульсов».



“Развязка спинов” типа «^{1}H- off-resonance”

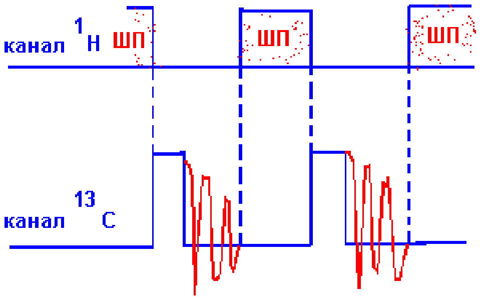
Для получения информации о числе атомов водорода, связанных с различными атомами углерода в исследуемом образце, и был развит данный метод, в котором используется меньшая мощность «декаплера». В результате этого ССВ существенно уменьшается, но мультиплетность сигналов сохраняется. Подбирая соответствующие приборные условия, можно обеспечить наблюдение тех мультиплетов, которые обусловлены ССВ только непосредственно связанных ядер.



A) – спектр ПМР (90 МГц)
B) – E) – спектры ЯМР ^{13}C; B) – без C-H «развязки»;
C) – селективная «развязка» от CH_3-протонов;
D) – «^{1}H-off-resonance» с приложением ν2 в область δ = 8 м.д.
E) – «^{1}H-off-resonance» с приложением ν2 в область δ = 1 м.д.

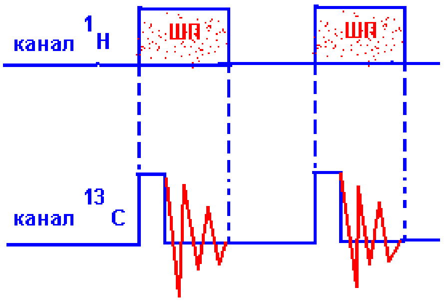
«Распаривание с воротами» (Gated Decoupling)

Для сохранения, с одной стороны, информации о числе ^{1}H, связанных с ^{13}C, и, с другой стороны, увеличения интенсивности сигналов за счет ядерного эффекта Оверхаузера (хотя бы частично) разработана специальная методика, в которой, в отличие от «ШП-развязки», «декаплер» на время импульса возбуждения ^{13}C и снятия информации выключается.



При выключении «декаплера» сразу же возобновляется ССВ, но заселенности уровней к своим равновесным значениям возвращаются очень медленно, что контролируется T_1, которые обычно больше, чем время, необходимое для снятия информации.

«Обратное распаривание с воротами» (Inverse Gated Decoupling) разработано для получения спектров ЯМР ^{13}C с корректными интенсивностями сигналов. В этой методике «декаплер» включается только на период импульса возбуждения ^{13}C и снятия информации. За такой короткий период ядерный эффект Оверхаузера не может привести к увеличению интенсивности сигналов.



После накопления ССИ и выключения широкополосного «декаплера» система перед следующим импульсом должна снова релаксировать. Однако, необходимое для этого время короче, чем $5T_1$.

Одноразмерные эксперименты ЯМР с использованием сложных последовательностей импульсов.

J-Модулированные эксперименты «спин-эхо». В обычных экспериментах «спин-эхо», используемых для определения T_2 путем устранения вклада неоднородности магнитного поля в релаксацию, используется следующая последовательность импульсов:

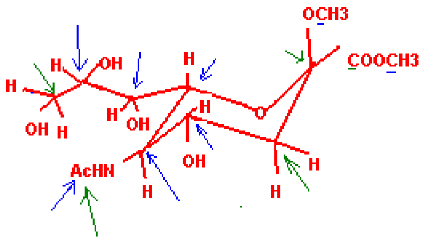
$$90^0_{x'} – \tau - 180^0_{x'}-\tau(1\text{-ое-эхо}) – \tau – 180^0_{x'} – \tau(2\text{-ое-эхо})…$$

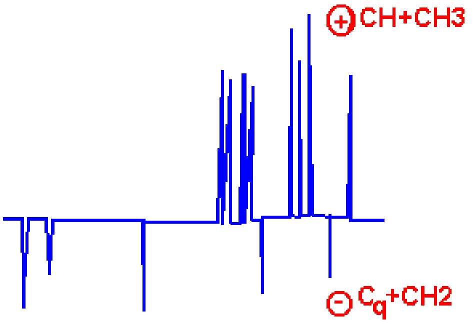
Эти эксперименты проводились с целью рефокусировать векторы спинов, отклонявшихся за время τ (несколько сотен ms, а продолжительность импульсов τ_p – всего несколько μs) от первоначальной ориентации вследствие неоднородности B_0 или различных Ларноровых частот (химические сдвиги).

Теперь рассмотрим, как ССВ влияет на «спин-эхо», взяв спиновую систему AX на примере $^{13}CHCl_3$ (где A = ^{1}H и X = ^{13}C) при наблюдении спектра ЯМР ^{13}C. Оказывается, что в зависимости от J(C,H) получаются «правильные» и «неправильные» спектры, что дает возможность решать обратную задачу, т.е. находить истинные значения J(C,H).

Дж.Шулери (1982) предложил т.н. «тест на присоединенные протоны» (APT), из которого видно, что 5 сигналов «вниз» относятся к четвертичным и вторичным углеродам (N_H = 0,2, т.е. четное), а 8 сигналов «вверх» – к третичным и первичным углеродам (N_H = 1,3, т.е. нечетное).

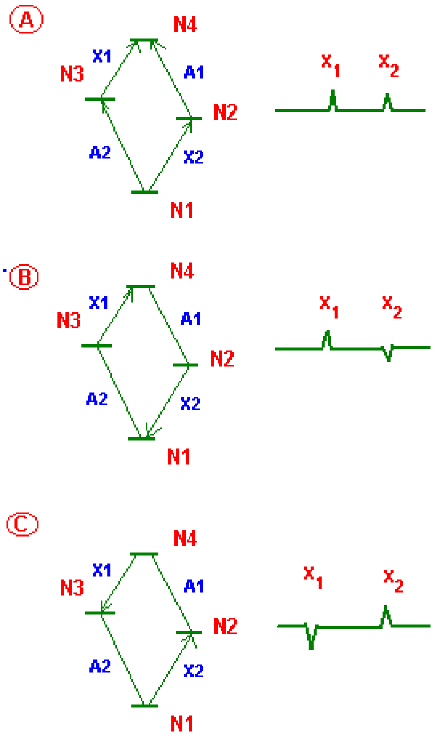
Метилкетозид-метилового эфира N-ацетил-D-нейраминовой кислоты.





Увеличение сигнала переносом поляризации

Эксперимент с селективным обращением населенностей (SPI).
Интенсивность сигнала пропорциональна $N_\alpha - N_\beta$, а $N_\beta/N_\alpha = 1 - (\gamma\hbar B_0/K_B T)$, поэтому $N_\alpha - N_\beta$ растет с увеличением магнитного поля. Рассмотрим на примере $^{13}CHCl_3$ возможность увеличения интенсивности сигнала в спектре ЯМР ^{13}C с помощью селективных импульсов.



A) – равновесное состояние;

B) – селективный 180^0 импульс, возбуждая только переход A_2, инвертирует населенности уровней 1 и 3. Поэтому переход X_1 дает увеличение сигнала поглощения, а переход дает увеличенный сигнал испускания.

C) – селективный 180^0 импульс, возбуждая только переход A_1, инвертирует населенности уровней 2 и 4. И снова мы получаем два увеличенных сигнала – поглощения для перехода X_2 и эмиссии для перехода X_1.

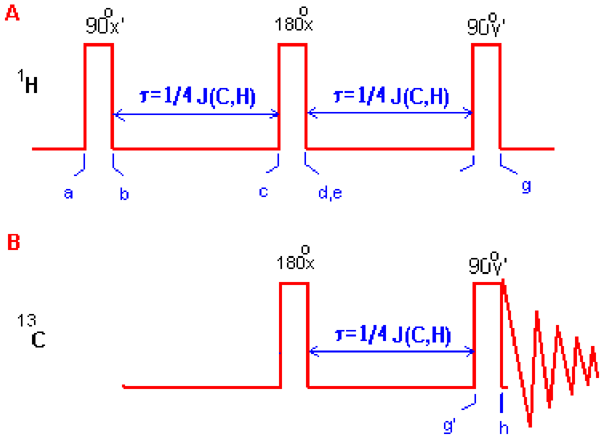
Такой перенос поляризации лучше называть переносом намагниченности. По теории, факторы населения являются функциями гиромагнитных отношений:

$$1 + \gamma_A/\gamma_X \text{ и } 1 - \gamma_A/\gamma_X$$

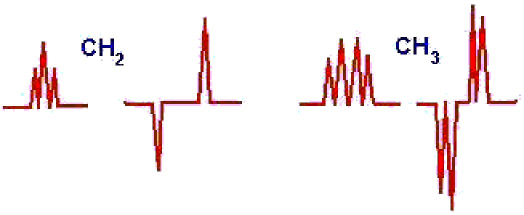
Для $^{13}CHCl_3$, т.к. $\gamma(^1H)/\gamma(^{13}C) = 4$, интенсивность сигнала поглощения в 5 раз, а эмиссии в 3 раза больше интенсивности нормального сигнала. Эксперимент с SPI довольно сложный т.к. сперва нужно измерить частоты переходов $^1H(A_1$ и $A_2)$. Затем нужно генерировать и приложить 180^0 импульс. Два новых метода, использующих специальные последовательности импульсов (INEPT и DEBT), созданы специально для замены экспериментов SPI.

Эксперименты с нечувствительными ядрами ,”усиленными” переносом поляризации.

INEPT (Р.Фримен, 1979) имеет большое преимущество перед SPI, т.к. в нём перенос поляризации достигается без использования селективных импульсов , что устраняет необходимость точного измерения частот “спутников ^{13}C”.



Кроме того, для сигналов всех ядер ^{13}C, которые имеют идентичные (аналогичные) значения $J(C_1H)$ с соседними протонами , достигается одинаковое увеличение чувствительности. Это объясняется непосредственно последовательностью импульсов, в которой единственной переменной является $\tau = (4J(C_1H))^{-1}$.



Если рассмотреть применение INEPT для трех-

и -четырёхспиновых систем то: (см. рис.)

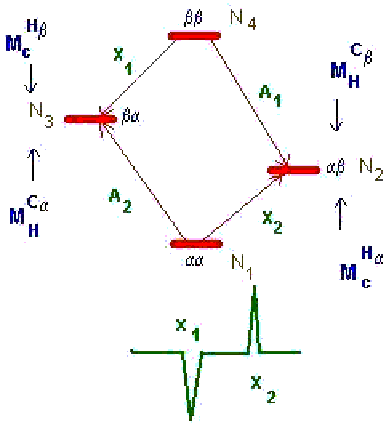
Т.е. для CH_2 – группы средняя компонента исчезает, а внешние линии увеличиваются в

$3\gamma(^1H)/\gamma(^{13}C)$ раз.

Экспримент INEPT для $^{13}CHCl_3$ инвертирует населенности уровней 2 и 4 , что приводит к изменению на обратные направления векторов макроскопической намагниченности $M^{C\beta}$ и $M^{H\beta}$ (по сравнению с равновесием .

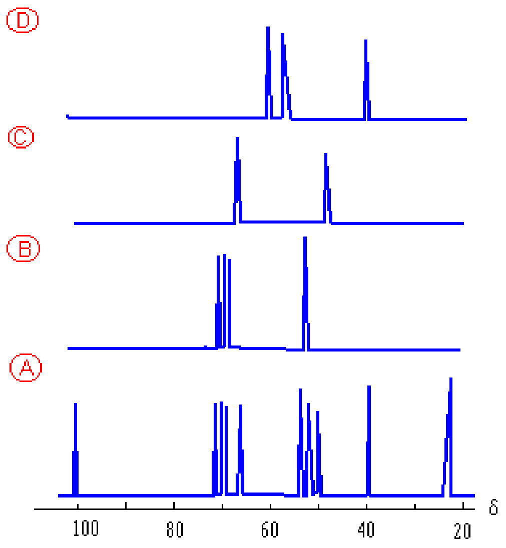
В спектре ЯМР ^{13}C, наблюдается два увеличенных сигнала – один позитивный и один негативный.

INEPT очень эффективно использовать для ЯМР ^{15}N,т.к. фактор усиления $\gamma(^1H)/\gamma(^{15}N) \approx 10$

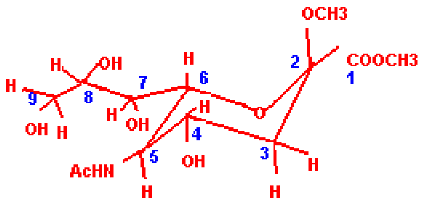


Эксперимент по неискаженному уселению переносом поляризации (DEPT).

DEPT является одним из наиболее важных методов в современной спектроскопии ЯМР ,т.к., например, двойной ”off-резонанс” не в состоянии разрешить проблему, если сигналы расположены очень близко друг к другу (или когда мы имеем спектры высокого порядка);
J-модулированное “спин-эхо”не позволяет отличить четвертичные атомы углерода от вторичных, а третичные от первичных; в различных экспериментах INEPT часто бывает трудно, когда сигналы накладываются друг на друга, или когда нужно отличить CH- и CH_3 –группы. Рассмотрим спектры ЯМР ^{13}C знакомого нам вещества:



метилкетозидметилового эфира N-ацетил –D-нейраминовой кислоты:



(A) Спектр ЯМР ^{13}C с ШП-развязкой (100.6 Мгц)
(B) CH-суб-спектр: DEPT(90)
(C) CH_2-суб-спектр: DEPT(45)- DEPT(135)
(D) CH_3-суб-спектр: DEPT(45)+ DEPT(135) –
(E) 0.707*DEPT(90)

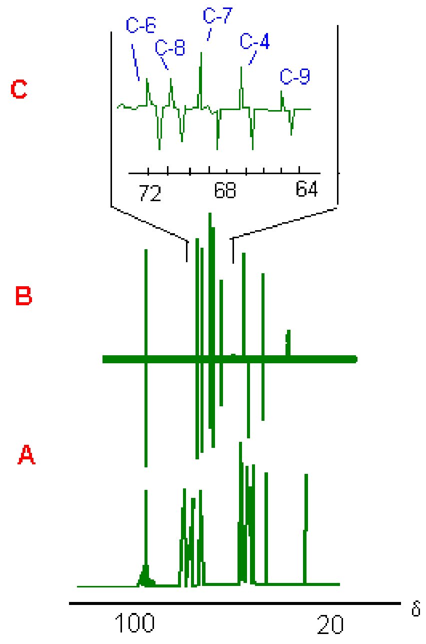
Последовательность импульсов для эксперимента DEPT:
канал ^1H : $90°_{x'}$-τ-$180°_{x'}$-τ-$\theta_{y'}$-τ-ШП-развязка
канал ^{13}C: $90°_{x'}$-τ-180° -τ- ССИ(t_2)

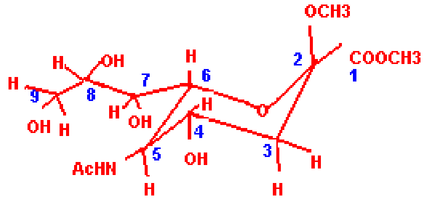
Одноразмерный эксперимент INADEQUATE

Для спектроскопии ЯМР ^{13}C крайне важно получать информацию о ССВ в фрагментах: ^{13}C-^{13}C , ^{13}C-C-^{13}C и ^{13}C-C-C-^{13}C. Но уже для первого случая вероятность его найти в молекуле – <u>1: 10000!</u> Величина такой КССВ – <u>от 30 до 70 гц</u>, т.е. $^{2}J(C_1C)$ и $^{3}J(C_1C)$ будут на порядок меньше и совпадут с основным сигналом и его “боковыми от вращения”. Ситуация будет намного лучше , если основной сигнал ^{13}C , будет подавлен, чего и можно достичь с помощью эксперимента INADEQUATE (incredible natural abundance double quantum transfer).

В этом методе используется следующая последовательность импульсов;

$$90°_{x'}\text{-}\tau\text{-}180°_{y'}\text{-}\tau\text{-}90°_{x'}\text{-}\Delta\text{-}90°_{\phi'} \text{ - ССИ } (t_2)$$





A: Спектр ЯМР ^{13}C с ШП-развязкой
B: Спектр 1D-INADEQUATE
C: Расширенная часть спектра B

Полученные КССВ (Гц):
J(2,3) = 36.9±0.2
J(3,4) = 37.1±0.2
J(4,5) = 38.1±0.2
J(5,6) = 39.7±0.2
J(6,7) = 43.7±0.2
J(7,8) = 44.0±0.2
J(8,9) = 41.1±0.2

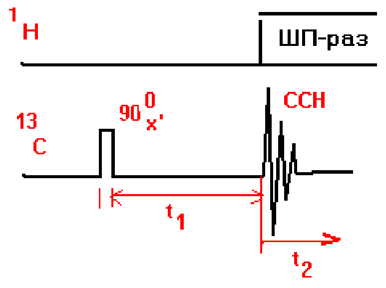
Для успешного эксперимента очень важно правильно выбирать время задержки τ (в данном случае –5ms). По теории двойная квантовая когерентность осуществляется с максимальной эффективностью , если:

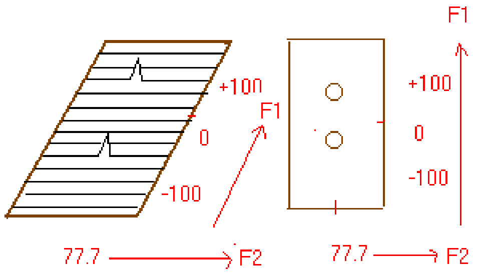
$$\tau = (2n+1)/4J(C_1C) \quad \text{при } n = 0,1,2,3$$

Двуразмерная (2D) спектроскопия ЯМР

В отличие от 1D-ЯМР, где абсцисса спектра представляет собой частотную ось, несущую информацию о химсдвигах, а ордината дает интенсивности сигналов, в 2D-ЯМР как абсцисса, так и ордината являются частотными осями, а интенсивности образуют третье измерение. Если вдоль одной из частотных осей мы откладываем «d», а вдоль другой – «J», то такой спектр мы называем 2D-J-разрешенным. Если же вдоль обеих осей откладываются «d», то мы имеем 2D-d-коррелированный спектр.

В отличие от обычного импульсного эксперимента ЯМР, в котором непосредственно за возбуждаемым импульсом идет фаза «восприятия данных», и от одноразмерных экспериментов, в которых кроме импульса и фазы «восприятия данных» есть еще «подготовительная» фаза, в 2D-экспериментах появляется еще одна промежуточная фаза – «эволюции и смешения».



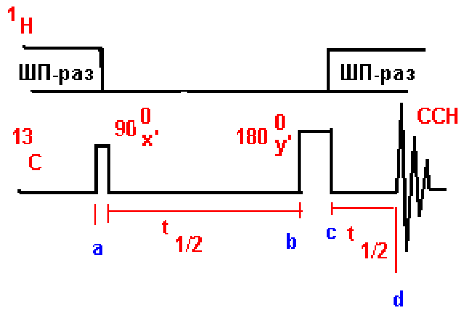


Переменной в эксперименте является t_1, меняющаяся от «ms» до «s». ШП-развязка осуществляется только при «восприятии данных», т.е. при «эволюции и смешении» имеет место ССВ (для $^{13}CHCl_3$ – ^{13}C-^{1}H). Проведение n экспериментов с разными t_1 с Фурье-преобразованиями относительно t_2 дает n спектров F_2, а при втором Фурье-преобразовании этих n F_2-спектров относительно t_1 получаем две частоты, разница между которыми равна $J(^{13}C – {}^{1}H)$.

В «поленичном» варианте спектра, каждая поленица не соответствует одному эксперименту, а в «контурном» спектре дается вид сверху, при том, что «срез» сигналов осуществляется на определенной высоте от плоскости F_1-F_2.

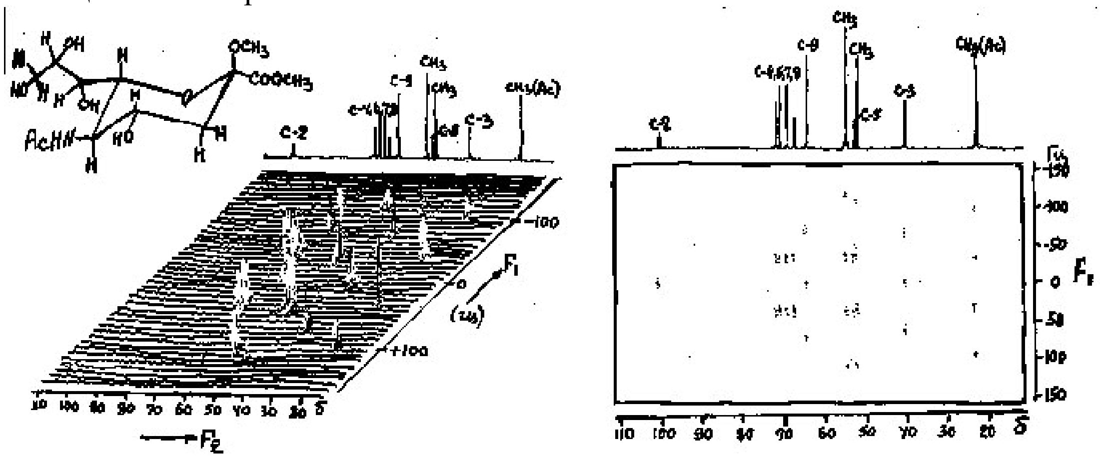
Гетероядерные 2D-J,δ-спектроскопия ЯМР ^{13}C

Рассмотрим применение для этих целей методики «распаривания с воротами» для $^{13}CHCl_3$.



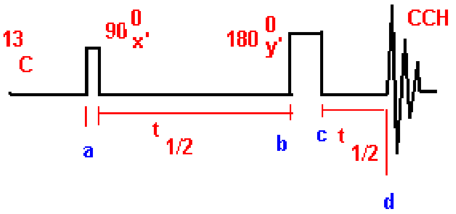
Последовательность импульсов от только что рассмотренной отличается наличием в середине фазы "эволюция и смешение» импульса $180^0_{y'}$ и широкополосной развязкой во второй половине этой фазы. Для $^{13}CHCl_3$ Фурье-преобразование относительно t_2 дает синглет, модулированный J(C, H). Второе Фурье-преобразование относительно t_1 дает дублет вдоль направления оси F_1 с расщеплением J(C,H)/2, т.к. система претерпевала «эволюцию» не t_1, а $t_{1/2}$.

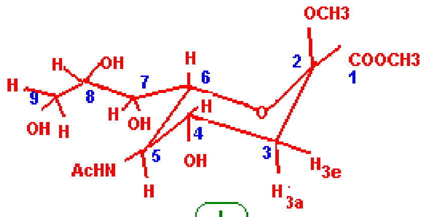
Рассмотрим теперь гетероядерный 2D-J,δ-спектр ЯМР ^{13}C для метилкетозида метилового эфира N-ацетил-D-нейраминовой кислоты.



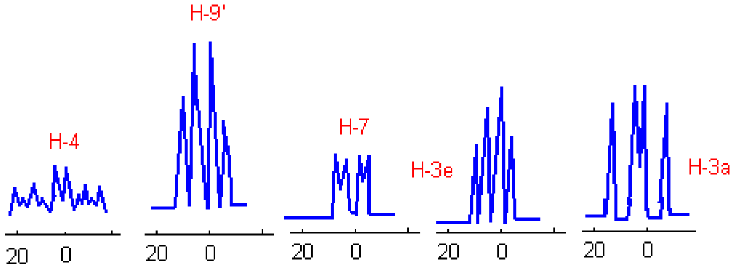
Гомоядерная 2D-J,δ-спектроскопия ЯМР ^{1}H

В связи с тем, что для гомоядерных систем ШП-развязка невозможна, «спаривание» спинов ^{1}H-^{1}H будет иметь место на протяжении всего эксперимента. Последовательность импульсов: $90^0_{x'}$ – $t_{1/2}$ – $180^0_{x'}$ – $t_{1/2}$ – ССН(t_2). Интерферограммы (ССН) записываются для нескольких различных значений t_1 при постоянных интервалах в несколько миллисекунд.



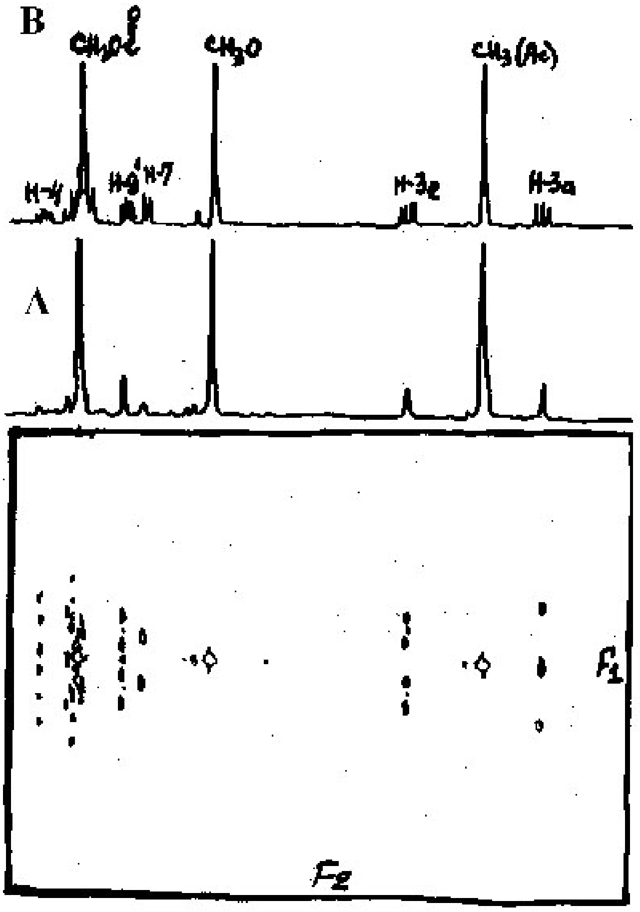


I



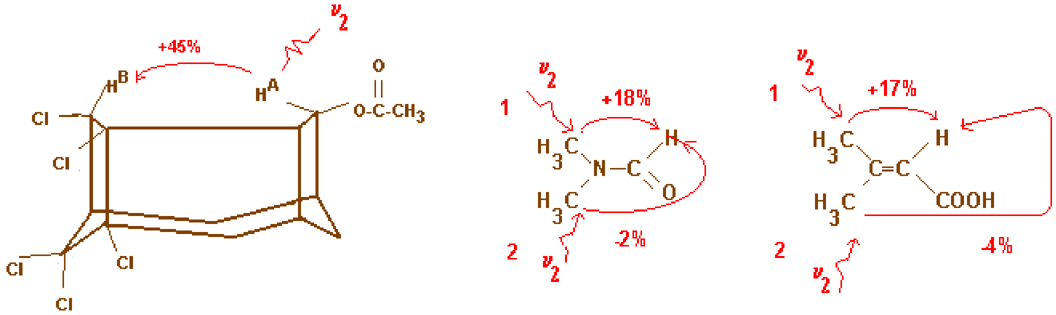
A) – проекция мультиплетов на ось F_2
B) – нормальный (1D) спектр ПМР соединения I.

На контурном спектре сигналы с δ = 3.9 м.д. выглядят сложно из-зи перекрывания сигнала сложноэфирной CH_3-группы с четырьмя CH-протонами. В таких случаях используют 2D-коррелированную спектроскопию ЯМР.

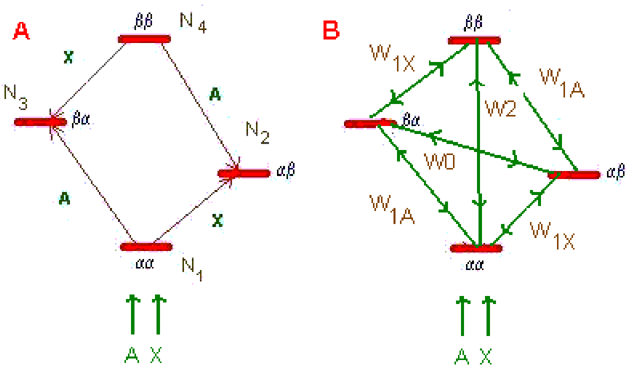


Ядерный эффект Оверхаузера

Уже упоминался при описании получения спектров ЯМР ^{13}C – $\{^1H\}$ в условиях ШП – развязки. Рассмотрим примеры гомоядерных систем:

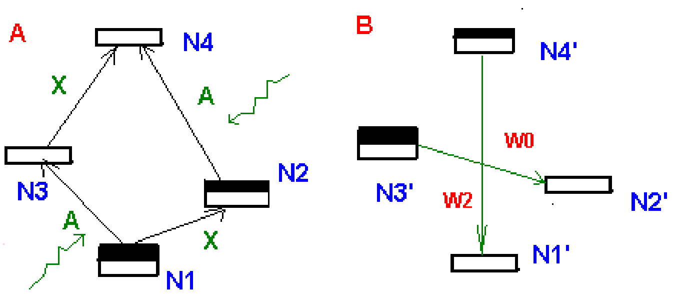


Для понимания физических основ ЯЭО рассмотрим сперва двухспиновую систему АХ, в предположении, что J_{AX}=О (т.е А и Х дают синглеты, интенсивности которых определяются разницей в заселенностях в соответствующих энергетических уровней при равновесии. ЯЭО при «насыщении» перехода ядра А приводит к изменению заселенностей и система пытается восстановить равновесие за счет спин-решеточной релаксации, имеющей диполь-дипольный механизм.



А) показывает переходы спинов, а В) иллюстрирует все возможные и теоретически разрешенные процессы релаксации вмести с вероятностями переходов W. Интересно, что W_2 может быть больше, чем W_1. Если W_2 и W_0 обусловлены диполь-дипольной релаксацией, то W_1 определяется, в основном, недипольным вкладом.

Рассмотрим теперь гетероядерную систему AX(A=^{1}H, X=^{13}C).



A) демонстрирует равновесие; при “насыщении” A-переходов уровни 1 и 3 становятся равнозаселенными, также как уровни 2 и 4.
B) показывает, что $N_{1'}=N_{3'}$ и $N_{2'}=N_{4'}$, а W_2 и W_0 – вероятности релаксации.

Очевидно, что при новом равновесии (B) $N_{1'} < N_1$, а $N_{4'} > N_4$, из чего следует: $N_{1'}/N_{4'} < N_1/N_4$. W_2 пытается увеличить $N_{1'}$ за счет $N_{4'}$, что приводит к увеличению в различиях заселенностей $N_{1'} – N_{2'}$ и $N_{3'} – N_{4'}$, определяющих интенсивности X – переходов. Напротив, W_0 пытается увеличить $N_{2'}$ за счет $N_{3'}$, что уменьшант различие заселенностей $N_{1'} – N_{2'}$ и $N_{3'} – N_{4'}$, тем самым уменьшая интенсивность сигнала. Комбинация этих двух противоположенных релаксационных механизмов и представляет собой ЯЭО, который в итоге и зависит от того, какой вклад дают W_2 и W_0. W_2 доминирует в случае малых молекул с короткими временами корреляции τc, в результате чего и наблюдается положительный ЯЭО. Для макромолекул с длинными τ_c наибольший вклад дает W_0, что и определяет наблюдение отрицательного ЯЭО. Такая зависимость W_2 и W_0 от τ_c объясняется тем, что флуктуирующие магнитные поля, необходимые для индуцирования двойного квантового перехода, должны содержать частоты, близкие к сумме ларноровских частот ν_A и ν_X, тогда как для нулевого квантового перехода нужны существенно меньшие частоты. Из этого следует, что рост интенсивности сигнала вследствие ЯЭО зависит от напряженности магнитного поля! Использование современных спектрометров с высокими магнитными полями сделало довольно обычным наблюдение «отрицательных усилений» резонансных сигналов.

Факторы увеличения интенсивностей сигналов.

В предположении, что ядра претерпевают быструю реориентаию (короткое τ_c) и что их релаксация происходит исключительно по диполярному механизму, теория дает дробное увеличение η, как показано в уравнении: $\boldsymbol{\eta=\gamma_a/2\gamma_x}$ («насыщается» А, наблюдается Х). Итоговая интенсивность сигнала определяется выражением: $\mathbf{I=(1+\eta)I_0}$ (где $\mathbf{I_0}$ – первоначальная интенсивность).

Используя гиромагнитные отношения, можно находить η для разных пар взаимодействующих ядер.

Примеры:

1) Для сигналов ^{13}C в условиях ШП - развязки определим η, имея ввиду, что $\gamma(^{1}H)\approx4\gamma(^{13}C)$. Следовательно, η≈2, т.е. интенсивность возрастет от 1 до 3, или на 200%.

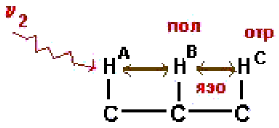
2)При наблюдении сигналов ^{1}H в условиях “насыщения” резонанса ^{13}C (такой эксперимент осуществить практически можно только на ^{13}C- обогащенном образце) мы получим (при 100% обогащении) η≈0.125, т.е. сигнал возрастёт лишь на 12,5%.

<u>Вывод:</u> В гетероядерном варианте ЯЭО необходимо, по возможности “насыщать” более чувствительные ядра (т.е. с набольшим γ) и, соответственно, наблюдать менее чувствительные ядра.

3) В гомоядерных системах эксперименты по ЯЭО имеют практическую значимость только для ^{1}H. Тогда η=0.5 даст 50% увеличения интенсивности, что для ЯМР ^{1}H существенно, а для ^{13}C – нет.

4) Если γ – отрицательно, то наблюдаются специфические эффекты. Например, для ^{15}N γ=-2.712 и наблюдая резонанс ^{15}N в условиях ШП – развязки от ^{1}H (γ=+26.752), имеем η=-5 !!! Это объясняет, почему при записи спектров ^{15}N часто наблюдаются отрицательные сигналы. Если вдруг в конкретном эксперименте η=-1, то сигналы ^{15}N, естественно вобще исчезают!

В многоспиновых системах важными являются две оobенности : 1) в гомоядерном случае максимальное увеличение η = 0.5 ; 2) могут иметь место отрицательные вклады в наблюдаемый ЯЭО;



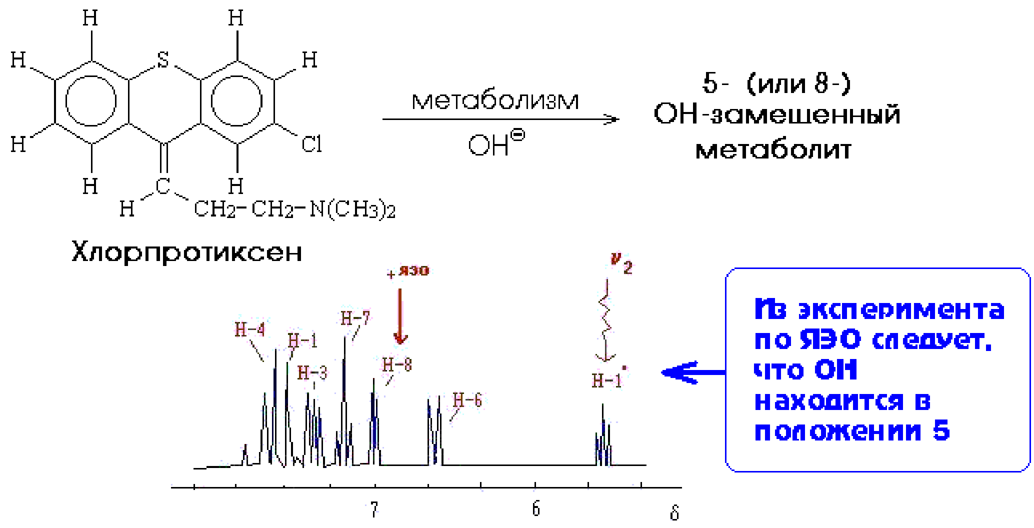
Прямой ЯЭО- положительный.
Не прямой ЯЭО- отрицательный.

Применение ЯЭО в органической химии

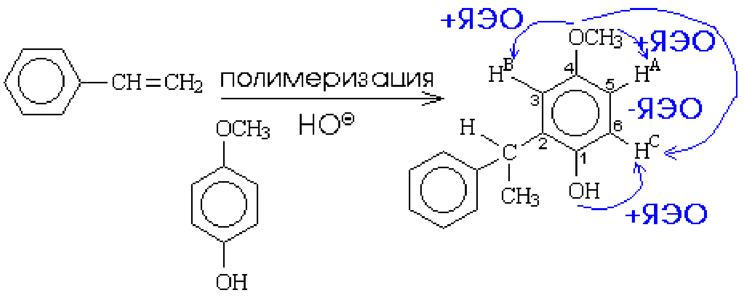
Т.к. фактор увеличения η зависит как от расстояния между взаимодействующими ядрами, так и от времени корреляции τ_c , то очевидны следующие применения ЯЭО:

1) выявление молекулярного строения и конформации;
2) помощь в отнесении сигналов;
3) исследования молекулярной динамики. Позднее наиболее сложное и используется преимущественно для макромолекул.

Примеры:



Из того же эксперимента следует Z – конфигурация метаболита ,т.к. не произошло увеличения интенсивности сигнала ΄Н. Интересно, что е-конфигурация реализуется для 6-ОН – хлорпротиксена.



Эксперимент по ЯЭО показывает, что присоединение прошло по С-2 (а не по С-3). При этом наблюдается непрямой ЯЭО.

Экспериментальные аспекты ЯЭО.

В реальных экспериментах с применением импульсного ЯМР сперва записывают обычный, затем спектр с ЯЭО и вычитают один из другого. В результирующем спектре наблюдаются только те сигналы, которые имеют различия в интенсивностях в спектрах 1 и 2. Негативные сигналы всегда появляются там, куда “прикладывается” ν_2 . Образец не должен содержать O_2. Лучше использовать D-растворители. Раствор должен быть разбавленный и невязкий.

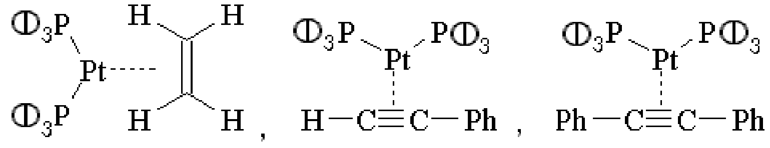
Parahydrogen Induced Polarization in Hydrogenation Reactions

1986, Bowers and Weitekamp	First discovery, which showed the ability of this NMR–technique to clucidate the pairwise hydrogen transfer to the substrates.
1988-94, Bargon, Eisenberg et al.	Identification of unstable dihydride intermediates, participating in the catalytic cycles of hydrogenation reactions catalyzed by rhodium, iridium, palladium and ruthenium complexes of different structures.
1995-96, Bargon, Klages, Permin, Petrosyan	Study of PHIP in the homogeneous hydrogenation reactions of alkenes and alkynes, catalyzed by various platinum complexes.

Inorganic complexes:

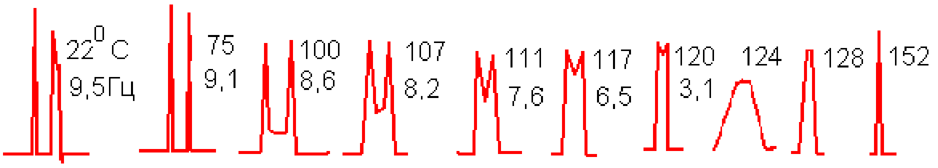
$Cl_2Pt(PPH_3)_2$, $Cl(H)Pt(PPh_3)_2$, $Cl(H)Pt(PMePh_2)_2$, $Cl_3Sn(H)Pt(PR_3)_2$ [R=Ph, Me]

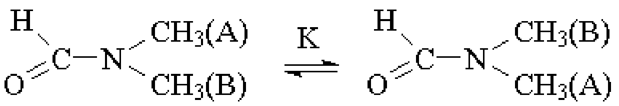
Organometallic complexes:



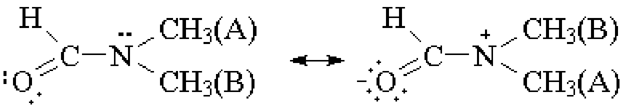
Динамическая спектроскопия ЯМР

Рассмотрим спектры ПМР ДМФА в интервале температур от +22^{0}С до +152^{0}С.



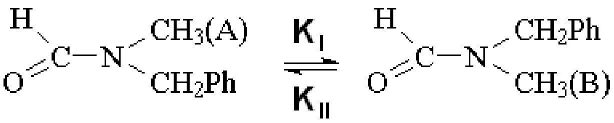


Или



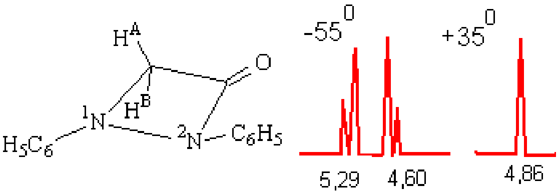
Т.е. имеет место реакция первого порядка. Переход I-II описывается константой скорости K_I, а обратный переход константой K_{II}.

При этом $K = K_I = K_{II}$, т.т. оба ротамера энергетически эквивалентны. В МБФА два ротамера будут отличаться друг от друга по энергии, а следовательно и по константам скоростей прямой и обратной реакции.



В спектре ПМР ДМФА при 120^{0}С два сигнала коалесцируют в один. Для этой T_C константа скорости коалесценции определяется выражением $K_C=2.22\Delta\nu$ (где $\Delta\nu$ – разница в гц между двумя сигналами в отсутствие обмена), т.е. $K_{120}\ ^0{}_C = 21\ c^{-1}$. Так как $\Delta\nu$ пропорциональна резонансной частоте т.е. напряженности магнитного поля, то T_C будет расти с увеличением резонансной частоты прибора.

Рассмотрим теперь случай, когда обмениваются положениями взаимодействующие друг с другом ядра. Константа скорости K_C при T_C уже выглядит иначе (с учетом ССВ А-В):



1,2-дифенилдиазетидинон (J_{AB}=14.0 Гц)

$$K_C = 2.22\sqrt{\Delta\nu^2 + 6J_{AB}^2}$$

В данном случае $\Delta\nu$=41 Гц и T_C=272 К, т.е. K_{272}=119 с$^{-1}$. Инверсия цикла с двумя атомами азота происходит медленно и с высоким энергетическим барьером ($\Delta G_{272}^{\#}$ = 13.3 Ккал/моль) из-за невыгодности возможного переходного состояния.

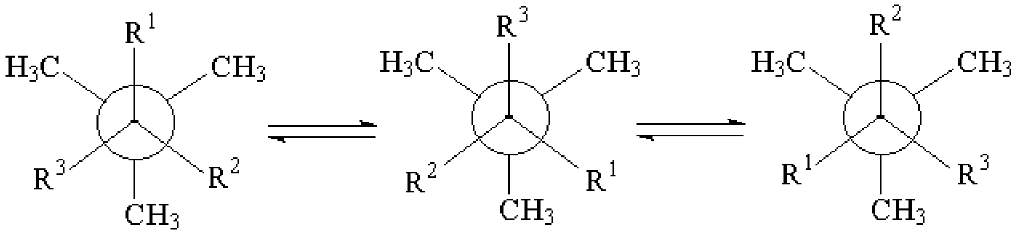
Применения Динамического ЯМР

Две основные причины, определяющие успешное применение динамического ЯМР:

1) Спектроскопия ЯМР часто является уникальным методом отличия продуктов реакции от исходных реагентов;
2) Она позволяет изучать реакции с константами скоростей от 10^{-1} до 10^{3} c^{-1}, что соответствует значениям $\Delta G^{\#}$ от 5 до 25 Ккал/моль. Эти интервалы значений обусловлены температурными возможностями спектрометров (от -100^{0}С до 200^{0}С), а для низких температур – растворимостью веществ.

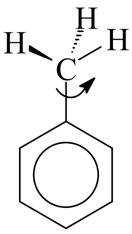
Вращение вокруг простых связей С-С.

1. Связи типа $C(sp^3)$-$C(sp^3)$.

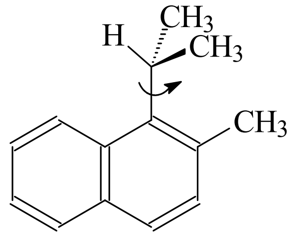


Наиболее подробно изучены галоген- и трет-бутил – замещенные этаны. В зависимости от природы и числа заместителей значения $\Delta G^{\#}$ менялись в пределах между 5 и 15 Ккал/моль.

2. Связи типа $C(sp^2)$-$C(sp^3)$.

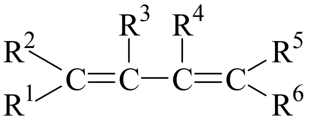
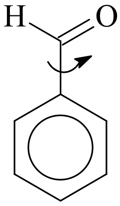


Ротамеры толуола невозможно «выморозить» даже при -150^{0}С.



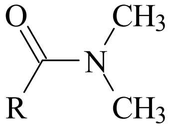
Для такого метил,изо-пропилнафталина T_c=228К, $\Delta G^{\#}_{228}$=12.7±0.2 Ккал/моль. Кроме ароматических sp^2-углеродов, аналогичные явления наблюдают для двойных С=С и С=О связей.

3. Связи типа $C(sp^2)$-$C(sp^2)$.

	Заторможенное вращение наблюдалось в хиральных производных бутадиена.		Даже для незамещенного бензальдегида удалось определить $\Delta G^{\#}$ = 7.9 ± 0.2 Ккал/моль.

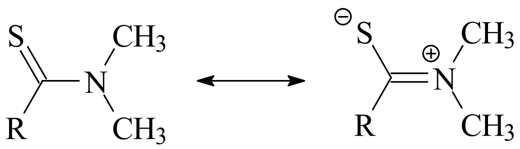
Вращение вокруг частично двойных связей.

1. Амиды.



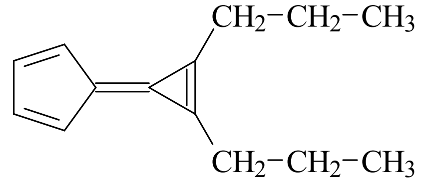
Введение в ДМФА вместо формильного водорода R приводит к снижению барьера. Для R=C_6H_5 $\Delta G^{\#}_{298}$ = 15.0 ± 0.2 Ккал/моль. Для R = t-C_4H_9 $\Delta G^{\#}_{298}$ уменьшается до 12.2 ± 0.2 Ккал/моль.

2. Тиоамиды.



В тиоамидах значения $\Delta G^{\#}$ на 2 – 4 Ккал/моль выше чем в амидах с теми же заместителями, что объясняют вкладом диполярных форм, в которых перекрывание 2р- и 3р-орбиталей менее эффективно, чем 2р-2р в амидах.

3. Двойные связи С=С.

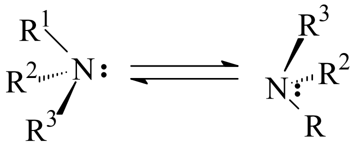


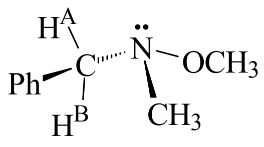
Обычно вращение вокруг связи С=С обнаружить не удается, т.к. барьер слишком высок. В данном соединении для вращения вокруг экзоциклической двойной связи $\Delta G^{\#}$ = 18Ккал/моль. T_C существенно зависит от растворителя и меняется от 339 до 387К.

Инверсия у атомов азота и фосфора.

1. Амины.

Обычно энантиомеры аминов с тремя разными заместителями разделить очень трудно, т.к. они быстро инвертируют.

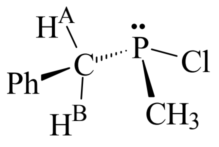




Если в качестве одного заместителя ввести прохиральную бензильную группу, то наблюдается инверсия с T_c=257К и $\Delta G^{\#}_{257}$ = 12.7 ± 0.2 ккал/моль.

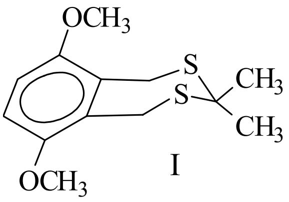
2. Фосфины.

Инверсия трехвалентного фосфора гораздо более медленная, чем для азота, так что ее нельзя наблюдать с помощью спектроскопии ЯМР. Но если ввести в молекулу атом хлора, то спектр при высоких t указывает на инверсию, приводящую к взаимопревращению двух энантиомеров (инверсия Вальдена).

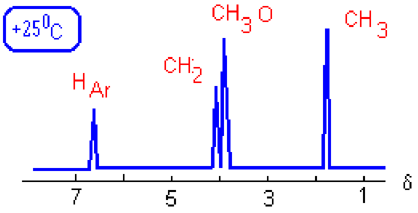


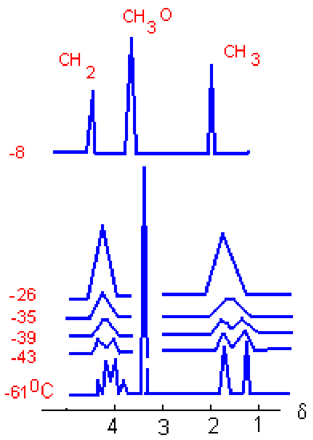
Инверсия циклов

Рассмотрим спектры ПМР
деметоксибензо-2,4-детиепина

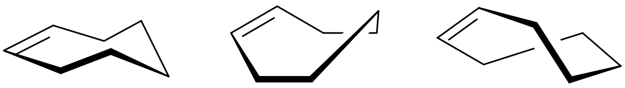


I





Наблюдаемые спектры позволяют из трёх
теоретически возможных конформаций:



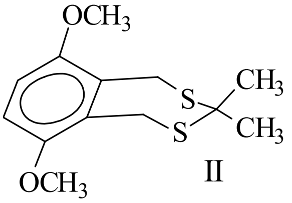
кресло ванна твист-ванна

сразу же исключить "твист-ванну", т.к. ее симметрия (C_2) предполагает эквивалентность CH_3–групп.
Что касается "ванны", то для нее $\Delta\nu(CH_3)$ из-за влияния "кольцевого тока" должна быть заведомо >100 гц , а на самом деле эта величина равна 52 гц. Т.о. предпочтительной является конформация " кресла", которая может быть не только I, но и II.

Из экспериментальных значений T_C=236±2K и $\Delta\nu$=52 гц получаем следующие параметры:

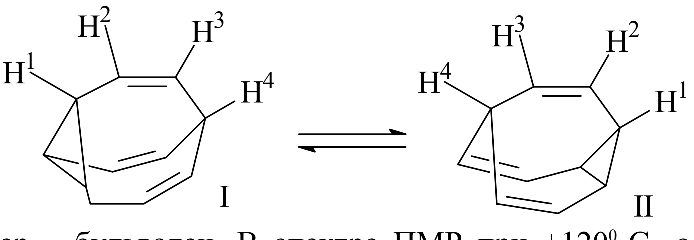
K_{236}=116±30сек $^{-1}$

ΔG_{236}=11.5±0.2ккал / моль



II

Валентная таутомерия



Классический пример – бульвален. В спектре ПМР при +120⁰ С- один узкий сигнал с δ=4.5. При охлаждении до +20⁰ С сигнал уширяется до нескольких сотен гц. При дальнейшем понижении t сигнал расщепляется, а при -60⁰ С образуется 2 мультиплета :1) при δ≈2 с относительной интенсивностью 4; 2) при δ≈5.6 с относительной интенсивностью 6. Спектроскопия ЯМР ^{13}C подтверждает эти данные. При +140⁰ С наблюдается синглет при δ≈86.4, а при -60⁰ С - четыре сигнала : два для олефиновых углеродов при 128.3 и 128.5 , один для циклопропановых углеродов (δ≈21.0) и один для С-4 (δ≈31.0). При коалесценции (от 40 до 50⁰С) ширина линии составила 4000 гц!

Определение параметров активации.

Используя уравнение Аррениуса $К = К_0exp(-E_A/RT)$, можно графически определить E_A для изучаемых динамических процессов. Т.к. $lnК = lnК_0 – E_A/RT$, то зависимость lnК от 1/T будет прямой линией с градиентом E_A/R. Определение E_A таким способом – довольно сложная задача, т.к. необходимо:

1) записать как можно больше спектров в широком интервале температур;
2) для каждого из этих спектров рассчитать константы скорости на основании полного анализа формы линии!

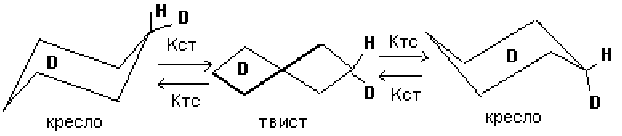
Свободную энтальпию активации $\Delta G^{\#}$ можно определить из уравнения Эйринга. Необходимое выражение выглядит так: $\Delta G^{\#}_c=4.58T_c(10.32+log(T_c/K_c))$ Кал/моль. Например, для ДМФА, при T_c = 393К и $К_{393}$ = 21с$^{-1}$ мы получим $\Delta G_{393}^{\#}$ = 20.9 ± 0.2 Ккал/моль. Если в уравнение Эйринга ввести соотношение $\Delta G^{\#} = \Delta H^{\#} - T\Delta S^{\#}$, провести логарифмирование, то, при К = 1, мы получим $logK/T = 10.32-\Delta H^{\#}/19.14T + \Delta S^{\#}/19.14$. Следовательно, откладывая log(К/Т) от 1/Т будем получать $\Delta H^{\#}$ и $\Delta S^{\#}$. Для мономолекулярных реакций соотношение между энтальпией активации и энергией активации: $\Delta H^{\#} = E_A – RT$.

Источники ошибок при оределении параметров активации:

1) Измерение $\Delta\nu$;
2) Измерение КССВ;
3) Измерение полуширин линий $\Delta\nu_{1/2}$;
4) Измерение $T_{абс}$;
5) Измерение T_c.

В первом приближении ошибки можно оценить следующими величинами: К и $К_с$ ± 25%; $\Delta G^{\#}$: ± 0.2 Ккал/моль; $\Delta H^{\#}$, E_A ± 1Ккал/моль; $\Delta S^{\#}$: ± 2 – 5 кал/мольК.

Конформационные превращения циклогексана. Открыты Дженсеном в 1960г на примере C_6H_{12}. В 1964 Анет с сотр. и Бови с сотр. в одном выпуске Proc.Chem.Soc опубликовали данные для C_6HD_{11}. В спектрах ПМР (в условиях развязки от D) при комнатной t – один сигнал, при –60^{0}С – два сигнала.

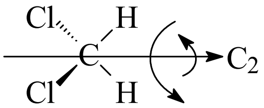


T_c = 212К; $\Delta\nu$ = 28.9 Гц; $К_с = К_{212}$=64с$^{-1}$.

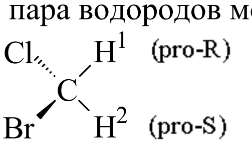
$К_{ст} = 2К_с$ = 128с$^{-1}$; $\Delta G^{\#}_{212}$ = 10.2 ± 0.2 Ккал/моль.

Гомотопные, энантиотопные и диастереотопные группы

Мислоу: в CH_2 группе пара водородов может быть гомо-, энантио- и диастереотопной.

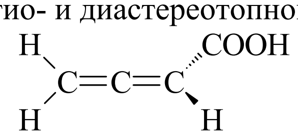


Гомотопия



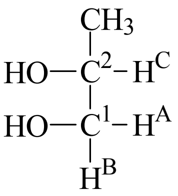
Энантиотопия

Если заменить один из атомов H на D, то получим два разных энантиомера (прохиральность).

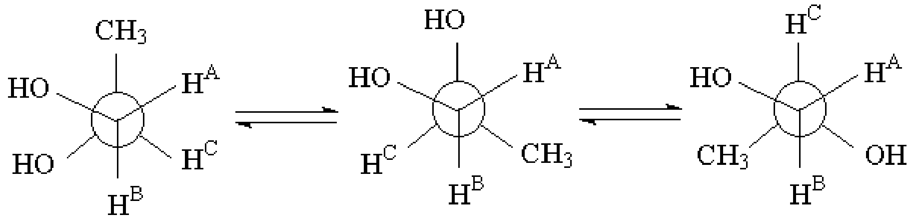


Энантиотопия

В спектрах ПМР гомотопные протоны эквивалентны, а энантиотопные – неразличимы. Если два атома H в CH_2-группе трудно поменять положениями при вращении вокруг оси симметрии или отражением в плоскости симметрии, их называют диастереотопными.



C^1- прхиральный центр: поэтому H^A и H^B – неэквивалентны (даже при вращении вокруг C^1 – C^2), за исключением изохронности.



Рассмотрение конформеров I – III приводит к следующим вкладам в экранирование H^A и H^B:

H^A: (δ_1) OH,CH_3/H,H; (δ_2) OH,OH/H,CH_3; (δ_3) OH,H/H,OH;
H^B: (δ_4) H,H/OH,OH; (δ_5) H, CH_3/OH,H; (δ_6) H,OH/OH,CH_3;

При быстром вращении значения δ для H^A и H^B усредняются:

$$\overline{\delta_A} = \chi_I\delta_1 + \chi_{II}\delta_2 + \chi_{III}\delta_3;$$

$$\overline{\delta_B} = \chi_I\delta_4 + \chi_{II}\delta_5 + \chi_{III}\delta_6$$

Даже если $X_I = X_{II} = X_{III} = 1/3$, значения не будут одинаковыми (за исключением изохронности). При асимметрическом атоме (C, P^{III} или «стерически жестком» N^{III}) CH_2 или $C(CH_3)_2$ всегда неэквивалентны.

Материалы подготовлены Е.Соколовым, А.Дергуновой и др.
// Планируется размещение на сайте ХимФака (ChemNet)
Москва, ХимФак МГУ, 2000